

00361
8



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTRUCTURA Y COMPORTAMIENTO
TERMICO DE LA HIDROXIAPATITA DEL
HUESO MANDIBULAR HUMANO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)
P R E S E N T A

RUTH / FRIEDMAN SAAVEDRA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE REYES GASGA
CODIRECTORA: DRA. MARGARITA V. GARCIA GARDUÑO

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS:

A todas las personas que colaboraron para la elaboración de este trabajo, en especial a los doctores:

José Reyes-Gasga. Por la oportunidad que me brindó de trabajar en su grupo de investigación y su apoyo en todo momento. Además de las muchas horas de tiempo que dedico para que este trabajo saliera adelante durante todas sus etapas. Por su dedicación y paciencia como director de tesis. En especial, por su aliento cuando yo me daba por vencida y él no. Gracias José.

Margarita V. García-Garduño. Por haberme apoyado para la realización de uno de mis sueños de siempre: el hacer investigación e introducirme a un tema tan interesante como es el estudio del hueso. Gracias Maggy.

Al Comité revisor: **Dr. Fructuoso Ayala Guerrero, Dr. Luis Felipe Jiménez García, Dr. Guillermo C. Espinosa García y a la Dra. Guadalupe T. Zavala Padilla** por sus valiosas sugerencias y comentarios para el mejoramiento de este trabajo.

Por su ayuda técnica expreso mi agradecimiento a las siguientes personas:

C. Flores, P. Mexia, por su colaboración en la preparación de muestras; **J. Cañetas,** por su trabajo experto y dedicado en la obtención de microfotografías de barrido. **S. Tehuacanero, C. Zorrilla y L. Rendón** por su apoyo en el área de digitalización de imágenes. **L. Bucio y L. Lozano,** por su colaboración en el manejo del horno DTA. **A. Osornio** que me apoyó en todos los aspectos del manejo de hornos de alta temperatura y colaboró en un gran número de actividades durante la fase experimental. A **Irma Orozco** por el apoyo en todo momento en el área secretarial.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

J. Vera, y M. A. Veytia, quiénes tuvieron el ingenio para hacer los cortes gruesos del material experimental. **A. Sánchez** por su excelente trabajo de fotografía. En especial a la **Lic. Marcela Romero J.** por su inapreciable colaboración en la búsqueda y captura de material bibliográfico a quien expreso además mi afecto por la amistad que me ha brindado, así como al **Fís. Jesús M. Ortega R.** quien aún en horas fuera de trabajo me apoyo para resolver problemas de computo. **E. Pástenes** por su ayuda y compañerismo para resolver problemas de computo y procesamiento de imágenes. Del IFUNAM.

A. Reyes y H. Esparza por su colaboración durante la fase experimental de Rayos X, espectroscopía infrarroja, análisis EDS y microscopía de barrido del CIMAV Chihuahua.

M. Marino y T. Baeza por su colaboración para la obtención de material radiográfico de la mandíbula, de la Fac. de Odontología, UNAM.

A. Millán por proporcionarnos la muestra de mandíbula humana, de la Fac. de Medicina, UNAM.

L. Gochicoa, por su trabajo en la caracterización antropológica de la mandíbula, objeto de este estudio, de la ENAH, SEP.

I. Romero J. Por su asesoría en la revisión de las citas bibliográficas.

Al **Instituto de Física de la UNAM** que me proporcionó todas las facilidades para la elaboración de este trabajo de tesis.

A los **proyectos: CONACYT 31695 N** "Análisis estructural y químico del esmalte dental humano", y **DGAPA-PAPIT IN 103700** "Propiedades físico- estructurales de la hidroxiapatita del esmalte dental humano" por el apoyo económico prestado.

RECONOCIMIENTO.

Al **Doctor Ramiro García-García** por su asesoría constante y desinteresada le debo un Reconocimiento. Aprovecho este espacio para expresarle mi gratitud por el trabajo y esfuerzo que mostró durante el desarrollo tanto del trabajo experimental, como de revisión de este trabajo de tesis; además del hecho de proporcionarme datos no publicados de su trabajo de varios años sobre la conducta térmica de la hidroxiapatita. El Dr. García-García no sólo me proporcionó *lo antes mencionado sino que me brindó su amistad sincera y me recordó la nobleza de la gente que trabaja en la investigación por su cariño a ella, sin esperar nada a cambio.* Gracias Ramiro.

DEDICATORIA:

A mi hija Lucina. Al brillo de tus ojos curiosos y dulces a la vez, ¡quién pudiera ver al mundo a través de esa mirada tan bella ¡

A mi hermana Rebeca que siempre ha estado conmigo en los momentos más dulces y también en los más dolorosos de mi vida.

A mi hermana Elisheva siempre preocupada por mí.

RESUMEN

En este trabajo se estudio el comportamiento estructural y químico a tres partes del hueso mandibular humano: cóndilo, rama ascendente anterior y alvéolo durante un tratamiento térmico. Su componente mayoritario es la hidroxiapatita (HA), por lo que se estudiaron los cambios en el cristal por técnicas de difracción de Rayos X, DTA (análisis térmico diferencial), TGA (análisis termogravimétrico), e IR (infrarrojo). La composición química se estudió por EDS (espectroscopía de dispersión de energía). Los cambios en la morfología de estas estructuras se analizaron por microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía óptica (MO) después del tratamiento térmico. Los resultados por microscopía sugieren que primero ocurre la fracturación de las estructuras observadas a temperatura ambiente y que los cambios morfológicos se producen después de la pérdida de material orgánico durante el tratamiento térmico.

Los resultados de difracción de Rayos X reflejan que la hidroxiapatita de estas estructuras es estable en el rango de temperatura estudiado (de 25°C a 800°C), sufriendo sólo un reacomodo los planos cristalinos. Los estudios de análisis químico muestran que se trata de una hidroxiapatita impura, es decir con sustituciones en el cristal. Por otra parte, los datos del DTA y TGA sugieren cambios importantes en el material hacia los 350°C, hallazgos consistentes con el trabajos previos en la hidroxiapatita del esmalte dental humano en donde se registran cambios de conductividad en respuesta al tratamiento térmico. Un hallazgo importante en este trabajo es el comportamiento del hueso alveolar al ser calentado, ya que los resultados de los análisis térmicos así como del IR sugieren la pérdida de agua estructural del cristal, confirmándose experimentalmente este fenómeno en un material que no es el esmalte dental. Por lo tanto la hidroxiapatita al ser sometida a tratamiento térmico pierde agua estructural, lo que constituye una aportación al conocimiento del comportamiento de este cristal, que representa un 93% del esmalte dental humano y un 70% del mineral óseo.

ÍNDICE GENERAL

Introducción	1
i. Presentación del problema	3
ii. Antecedentes y estado del arte en la materia	5
iii. Objetivo	7
iv. Justificación	8
Capítulo I.- Descripción anatómo-fisiológica del hueso	9
Capítulo II.- Estructura de la hidroxiapatita	22
Capítulo III.- Técnicas de análisis	32
-Microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido (MO, MEB)	33
-Análisis químico por espectroscopía de dispersión de energía (EDS)	35
-Difracción de Rayos X	36
-Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (DTA y TGA)	39
-Espectroscopía infrarroja (IR)	42
Capítulo IV.- Procedimiento experimental	46
Capítulo V.- Resultados	50
-Microscopía óptica y de barrido	55
-Análisis químico	58
-Difracción de Rayos X	70
-Análisis térmico diferencial y termogravimétrico	76
-Espectroscopía infrarroja	83
Capítulo VI.- Discusión	86
Conclusiones y perspectivas	91
Bibliografía	93
Anexo I. Índice general de tablas y figuras	98

INTRODUCCIÓN

El hueso en los vertebrados es una estructura altamente adaptativa a las demandas funcionales a las que está sometido, como son las de soporte del cuerpo, hematopoyesis y de reserva de calcio para un gran número de funciones celulares (contracción muscular, conducción nerviosa, etc).

A lo largo de la vida natural del individuo su metabolismo es influenciado por numerosos factores que incluyen edad, nutrición, ciclos hormonales, además de las influencias biomecánicas a las que se ve sujeto (Hobson, 1997). A pesar de esto, aún existen amplios vacíos en la investigación de las interacciones complejas de este tejido.

Las sales cristalinas del hueso que se depositan en la matriz orgánica se componen principalmente de calcio, fósforo y oxígeno, la más importante es la hidroxiapatita (HA) (Guyton, 1989). Existen pocos trabajos con respecto a la respuesta de la hidroxiapatita del hueso sometida a tratamiento térmico (Holden et al 1995; Holden, Clement, 1995) todos ellos realizados en huesos largos. Otros trabajos de una hidroxiapatita biológica a tratamientos térmicos han sido hechos en el esmalte dental humano. En estos se reporta por primera vez que cambia su conducta eléctrica en función de la temperatura, encontrándose que de ser un material aislante cambia a conductor iónico al alcanzar una temperatura alrededor de los 350°C a presión atmosférica (Reyes-Gasga, et al. 1999). Como parte de esta línea de investigación sobre ultraestructura y comportamiento térmico de las hidroxiapatitas en tejidos duros humanos, establecida en el Instituto de Física de la UNAM I por el grupo del Dr. Reyes-Gasga, se pretende contribuir al conocimiento del comportamiento estructural de la hidroxiapatita en tres partes de la mandíbula humana en respuesta a tratamiento térmico. Como sabemos, la estructura y propiedades de cualquier material dependen de la naturaleza química y física de sus componentes, por lo que es importante su estudio a nivel básico. En especial el estudio de la hidroxiapatita (HA) del hueso no ha sido abordado del todo a este

nivel, debido al pequeño tamaño de los cristales y a su complejo arreglo dentro de la matriz orgánica del hueso, además de la gran cantidad de material de sustitución que presenta. Sin embargo, su comportamiento y caracterización a nivel básico incide directamente en el campo de los biomateriales y por ende, en las ciencias de la salud. Este estudio se realizó a través de técnicas de difracción de Rayos X, microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, análisis químico, análisis térmico diferencial, análisis termogravimétrico y espectroscopia infrarroja en tres partes de la mandíbula humana (cóndilo, rama ascendente y alveolo).

Siguiendo el concepto de niveles de integración, este trabajo de tesis se divide en 6 capítulos. En el capítulo I se hace una descripción general de la anatomía y fisiología del hueso, con el objeto de tener una visión panorámica de la estructura de estudio a nivel macroscópico. También se describe su composición química y su clasificación morfológica, antes de introducirnos a la estructura de la hidroxiapatita, tema que se aborda en el capítulo II. En El capítulo II se presenta una descripción cristalográfica de la HA, para después detallar algunos aspectos conocidos de ésta en el hueso, incluyendo la descripción de algunas de las sustituciones del cristal. También se presenta una tabla comparativa de las diferencias del cristal entre esmalte dentina y hueso en humanos. En el capítulo III se detallan los principios en que se basan las técnicas de análisis que se emplearon en este trabajo de tesis, de acuerdo al orden enlistado en el índice general. En el capítulo IV, se presenta el procedimiento experimental, desde la obtención de las muestras hasta el procesamiento de las mismas para su ulterior presentación en resultados el que se lleva a cabo en el capítulo V. Estos resultados son presentados siguiendo la secuencia expuesta en el capítulo III.

Finalmente, los resultados son discutidos en el capítulo VI siguiendo la misma secuencia en que se presentan en el capítulo III. Las conclusiones de este trabajo, así como las perspectivas y la bibliografía consultada se encuentran al final de este trabajo de tesis así como un anexo que contiene el índice de tablas y figuras.

PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA

La hidroxiapatita (HA) es el componente principal de huesos y dientes. En estudios realizados en el Instituto de Física de la UNAM (Dr. Reyes-Gasga *et al.*) se ha observado que a variaciones térmicas el esmalte dental responde como un material conductor al alcanzar un punto crítico sobre los 200°C (Reyes-Gasga, García-García, 1997) y la estructura hexagonal se vuelve más definida como fue demostrado por estudios de Rayos X (Reyes -Gasga *et al.* 1997). A partir de estos resultados se demuestra que este material presenta una transición de ser un material aislante a un material semiconductor iónico. La pregunta que surge es si la hidroxiapatita del hueso mandibular humano cambia su comportamiento como en el caso del esmalte dental, cuando se somete a tratamiento térmico y cuál es este cambio si se presenta como una contribución al conocimiento de las hidroxiapatitas biológicas.

Desde 1926, utilizando técnicas de difracción de Rayos X y análisis químico, las fases minerales del esmalte, dentina y hueso se han identificado como componentes de los fosfatos de calcio con estructura de apatita idealizada como $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (LeGeros, 1991). Sin embargo, las investigaciones acerca de la no estequiometría y de la asociación con algunos elementos traza de las apatitas biológicas son de enorme relevancia para la investigación de Biomateriales especialmente, los que son utilizados en una amplia gama de aplicaciones biomédicas, como es el caso principalmente de la HA cuyo uso primordialmente radica en la reparación de defectos en tejidos duros así como en otra variedad de empleos dentro de las ciencias odontológicas (Ratner, 1996).

En especial la mandíbula humana, durante la vida natural del individuo, al ser sometida a las cargas de la masticación, de una u otra forma requiere de reparaciones, lo que repercute directamente en el estado de salud del individuo.

En el caso del hueso alveolar, éste cumple una función de amortiguamiento entre los componentes del periodoncio y las cargas de la masticación y ya sea por esta u otras causas, como son la pérdida de piezas dentarias, se ve sujeto a un proceso de reabsorción. Este es el motivo por el cual el hueso alveolar tiene especial importancia. Como anteriormente se mencionó, se utiliza apatita sintética para su reemplazo (Barbosa,1991) por lo que es importante su estudio a nivel básico para tratar de contribuir al éxito de las reparaciones, En relación al cóndilo, al ser el hueso de articulación entre mandíbula y maxila se ve sujeto a un proceso constante de desgaste, además de las patologías como la artroplasia, la resección de hueso debido a trauma, osteomielitis o cáncer, entre otros problemas que pueda presentar y que tratan los cirujanos maxilofaciales (Munster,1991). En tanto que la rama ascendente cumple con una función de transmisión de carga mecánica. Los tres huesos presentan una gran actividad osteoblástica y osteoclástica aunque no tanto de reserva de materiales del cuerpo, función que es principalmente de los huesos largos. Sin embargo el interés principal de su estudio es que podemos comparar simultáneamente el comportamiento de la hidroxiapatita de tres estructuras biológicas que cumplen con diferentes funciones en un mismo hueso. Además, al someterlas a tratamiento térmico, se puede comparar si su respuesta está influenciada por su función dentro de la misma unidad anatómica.

ANTECEDENTES

El trabajo de Holden *et al.* (1995) propone que con el análisis del tratamiento térmico al tejido óseo se ofrece una alternativa para el estudio del envejecimiento del hueso. Estos autores sugieren que los cambios ultraestructurales y de fase observados durante distintos calentamientos (rango de 600 a 1400°C) están influenciados por la edad del individuo. Ellos reportan que el tamaño de los cristales de apatita tanto con tratamiento térmico como sin él son dependientes tanto de la temperatura como de la edad. Arriba de los 600°C la cristalinidad del mineral óseo se incrementa y el patrón de Rayos X se parece más al de la HA. También reportan que existe una descomposición parcial de la fase de HA a óxido de calcio arriba de los 1000°C y de alfa- fosfato tricálcico, a, beta- fosfato tricálcico, y fosfato de óxido de calcio entre los 1200 y 1400°C, lo que indica que la fase original de la apatita era calcio deficiente y contenía carbonato (Holden *et al.* 1995).

Estos mismos autores reportan que en huesos femorales obtenidos de autopsias, tratados térmicamente dentro de un rango de 200 a 1600°C y en edades de 1 a 97 años, que los cambios más dramáticos se presentan a nivel ultraestructural, incluyendo la progresiva combustión del material orgánico hacia los 400°C presentándose una recristalización de la parte mineral hacia los 600°C. Esta recristalización produce una variedad de morfologías cristalinas (esféricas, hexagonales, plateletas, rosetas e irregulares) con crecimiento del tamaño de cristal por arriba de los 600°C presentándose una fusión del cristal a los 1000°C, proceso que continua hasta los 1400°C. A los 1600°C los minerales se funden. Durante el calentamiento los cambios ultraestructurales y de morfología del cristal se correlacionarán con la edad de los sujetos, la temperatura y el tiempo de calentamiento, (Holden *et al.* 1995). Estos resultados son de importancia para la ciencia forense y la paleoarqueología.

Por otra parte, los estudios de difracción de Rayos X realizados por el mismo grupo de forenses australianos (Holden, *et al.* 1995) muestran que el patrón mineral del hueso comparte similitudes con otras apatitas naturales y minerales. Llevando a estos autores a reportar que el principal componente mineral del hueso era una forma pobremente mineralizada de apatita. Investigaciones previas sobre la descomposición térmica del hueso y otras apatitas sintéticas y minerales han conducido a determinar la composición exacta de la fase original de fosfato de calcio (Blumenthal *et al.* 1981; Holcomb, 1980). Los estudios químicos han demostrado la presencia de fosfato ácido, carbonato, trazas de pirofosfato, sodio, magnesio, potasio, flúor y cloro. Actualmente el modelo más aceptado para la apatita del hueso está basado en una forma calcio-deficiente de hidroxiapatita, con fosfato ácido y/o grupos de carbonato substituyendo a los iones de fosfato (Blumenthal *et al.* 1981).

La HA de esmalte dental humano, por otra parte, sometida a calentamiento "in situ" en el microscopio electrónico de transmisión, presenta dos fenómenos: uno es en el que se depositan moléculas de hidrocarbón en su superficie formando estructuras fractales, ya que alcanza una energía de umbral después de la cual aparece un campo eléctrico produciendo estas estructuras, y la otra es que hay una transición de conductividad eléctrica alrededor de 300°C, (Reyes-Gasga *et al.* 1997).

Asimismo, datos no publicados del Dr. R. García-García *et al.*, presentan evidencia de la pérdida del radical OH de la estructura del cristal de la HA del esmalte dental humano y de la HA sintética en respuesta al tratamiento térmico, en el rango de 20 a 600°C. En este trabajo, a través de técnicas de espectroscopía infrarroja (IR), Análisis Térmico Diferencial (DTA), Barrido Calorimétrico Diferencial (DSC) y Análisis Termogravimétrico (TGA), prueban la pérdida del radical OH del centro del cristal de la hidroxiapatita (García-García *et al.*, En prensa).

OBJETIVOS

El objetivo general es conocer el comportamiento estructural del hueso mandibular humano, al ser sometido a un tratamiento térmico en el rango de 25 a 800°C. Los objetivos particulares son:

1. Estudiar el comportamiento estructural de la hidroxiapatita del hueso mandibular humano en tres porciones anatómicas (cóndilo, rama ascendente anterior y alveolo del tercer molar) al ser sometido a un *tratamiento térmico en el rango de 25° C a 800° C mediante técnicas de difracción de Rayos X.*
2. Caracterizar por microscopía electrónica de barrido el cóndilo, la rama ascendente, y el alvéolo del tercer molar de la mandíbula humana antes de *tratamiento térmico*
3. Determinar por análisis químico (EDS) la composición mineral de las tres *estructuras antes mencionadas sin tratamiento térmico así como la relación Ca/ P de cada una de ellas.*
4. Caracterizar por microscopía óptica y electrónica de barrido al hueso alveolar del tercer molar al ser sometido a *tratamiento térmico*
5. Estudiar la respuesta del hueso mandibular humano en las tres estructuras mencionadas sometidas a pruebas de análisis térmico diferencial y *termogravimétrico (DTA y TGA)*
6. Estudiar el espectro de absorción en infrarrojo (IR) de las tres estructuras mandibulares.

JUSTIFICACIÓN

La hidroxiapatita representa un 70% del contenido mineral del hueso y un 90% del esmalte dental humano. El estudio de su comportamiento térmico como uno de los materiales que son utilizados en una amplia gama de aplicaciones biomédicas, como es el caso principalmente de su empleo en la reparación de tejidos duros, representa un aporte de suma importancia al estudio de la ciencia de biomateriales. Se pretende en especial contribuir al conocimiento sobre tres porciones del hueso mandibular que realizan distintas funciones, ya que a partir de estas diferencias se puede desprender información que puede ser de utilidad no sólo para el desarrollo de biomateriales, sino también sobre aspectos específicos del comportamiento, estructura y composición de los elementos que éstos tienen y los cuales deben de presentar los materiales que los pretendan reemplazar.

Por otra parte, en estudios realizados en el Instituto de Física de la UNAM sobre hidroxiapatita del esmalte dental humano se ha observado que responde a las variaciones térmicas como un material conductor iónico, no electrónico, al alcanzar un punto crítico sobre los 200°C (Reyes- Gasga *et al.* 1999), lo que constituye un estímulo para continuar la línea de investigación sobre la conducta térmica de la hidroxiapatita en los diferentes tejidos duros.

CAPÍTULO I.- DESCRIPCIÓN ANATOMO- FISIOLÓGICA DEL HUESO

Composición y estructura.-

El hueso es un tejido mineralizado cuya función primaria es la de soporte de cargas, aunque lleva a cabo otras funciones como se mencionó en la Introducción de este trabajo. El hueso cortical húmedo está compuesto de un 22% en peso de materia orgánica de la cual del 90 al 96% del peso es colágena; 69% del peso es mineral; y 9% del peso es agua (Tabla I.1)

Tabla I.1. Componentes del hueso húmedo y cantidad de éstos en % de peso.

Tomado de Park (1992)

**Tomado de Ten Cate (1986).

Componentes	Cantidad (% en peso)
mineral (apatita)	69
matriz orgánica	22
colágena	(90-96% de la matriz orgánica)
otros: osteonectina, osteocalcina, proteína morfogénica del hueso, proteoglicano óseo y sialoproteína ósea	(4-10% de la matriz orgánica)
**	
agua	9

La subfase mineral más importante consiste de cristales nanométricos de una apatita de calcio y fosfato, la hidroxiapatita de estructura cristalina hexagonal.

Existen otros iones minerales como el citrato ($C_6H_5O_7^{4-}$), carbonato (CO_3^{2-}), fluoruro (F^-), y iones hidroxilo (OH^-) que pueden producir diferencias en las características microestructurales del hueso. Los cristales de apatita están formados como delgadas agujas, de 20 – 40nm de longitud, por 1.5–3nm en espesor, embebidos en una matriz de fibras de colágena. Estas fibrillas que contienen el mineral están arregladas en hojas laminares (3-7 μm) que corren helicoidalmente con respecto a lo largo del eje cilíndrico del osteón (llamado también canal de Havers). El osteón se compone de entre 4 a 20 lamelas que se arreglan en anillos concéntricos alrededor del canal de Havers. El diámetro de los osteones es típicamente de 150 a 250 μm en diámetro. Entre los osteones los sistemas intersticiales están tajantemente divididos por la línea cementada.

Las sustancias metabólicas son transportadas por un sistema de poros de intercomunicación conocidos como canalículos, lagunas, y canales de Volkmann, que están conectados con la cavidad medular del hueso. Estos sistemas de intercomunicación están llenos de fluidos corporales, y su volumen puede ser tan alto como del 18.9% de acuerdo a una estimación para hueso compacto de res. Las superficies internas y externas del hueso se llaman periostio y endostio, respectivamente, y ambas presentan propiedades osteogénicas (Ross, *et al.* 1997).

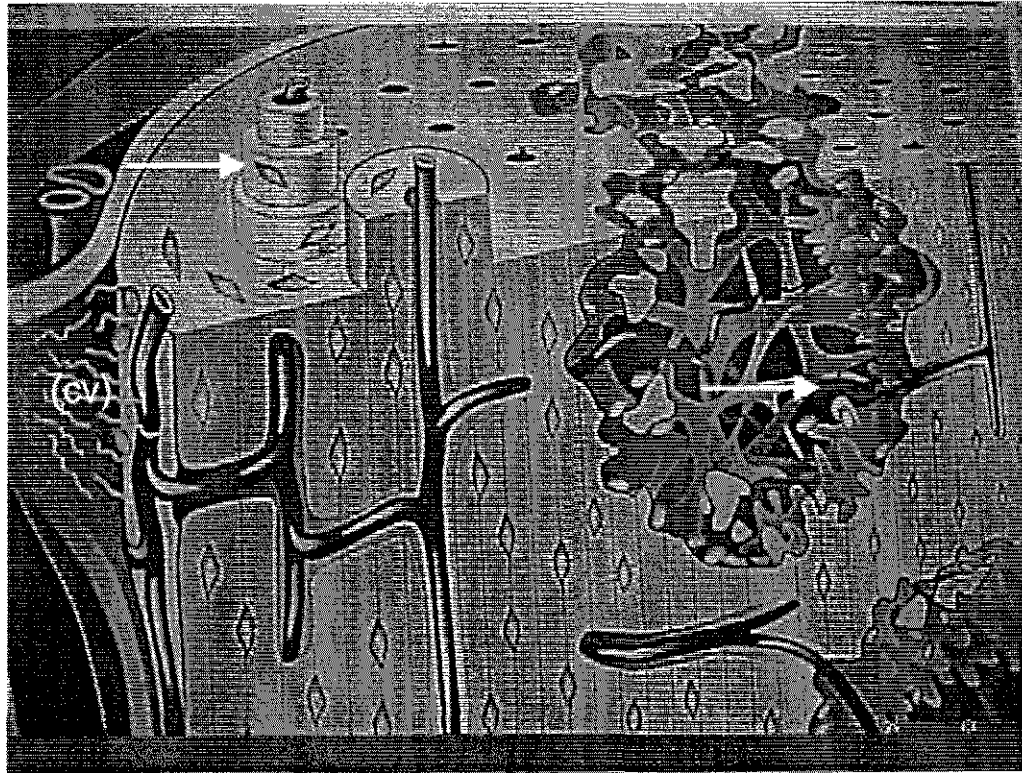


Figura I.1 Esquema del sistema de poros de intercomunicación del hueso

En esta figura se marca con flecha un canal de Havers y se observa el complejo sistema de canales (flecha) de transporte de sustancias metabólicas, y el paso de un paquete vasculo-nervioso (vn) en el hueso. El corte es sagital y transverso apical.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Clasificación morfológica del hueso

El hueso suele clasificarse en cuatro subclases de acuerdo a su contenido de tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y sustancia ósea en: 1) esponjoso o trabecular y 2) compacto o denso; y de acuerdo a su desarrollo en: 1) maduro o laminado y 2) inmaduro el que a su vez se clasifica según criterios morfológicos en: a) hueso en haces y b) hueso tejido.

Hueso esponjoso.- Se caracteriza por poseer mayor espacio ocupado por tejido conectivo laxo y vasos sanguíneos que sustancia ósea

Hueso compacto o denso.- Posee menos espacio ocupado por tejido blando y vasos sanguíneos. Esta es una regla para diferenciar entre ambos tipos de hueso, pero no existe un método exacto.

Con base a criterio morfológico como se mencionó, el hueso puede ser de dos clases: 1) maduro o laminado y 2) inmaduro: hueso en haces y hueso tejido.

Casi todo el hueso inmaduro se forma durante la vida embrionaria y luego es substituido por hueso maduro, sólo persiste en los alvéolos dentarios, cerca de las suturas craneanas, en el laberinto óseo y cerca de las inserciones de tendones y ligamentos. Sin embargo, en estos sitios suele estar mezclado con hueso maduro; también reaparece durante la reparación de fracturas. En general, posee más células que el maduro y puede tener una disposición de tejido en donde los fascículos de las fibras de colágena siguen direcciones variables, contiene más proteoglucanos y glucoproteínas; el dispuesto en haces difiere del tejido porque presenta haces toscos de fibras colágenas que pueden ser paralelas entre sí y estar separadas por osteocitos.

En el hueso maduro, también llamado laminado, la dirección de las fibrillas de colágena en una capa determinada suele presentar un ángulo con las fibrillas de las capas inmediatas adyacentes. A veces la dirección de las fibrillas de una capa es perpendicular a la de la siguiente (Ross, *et al.* 1997).

Los huesos largos están formados por hueso esponjoso y compacto. El hueso esponjoso consiste en ramas tridimensionales de trabéculas óseas interdispersadas por la médula del hueso. La mayor parte del hueso esponjoso está presente en las epífisis de los huesos largos, en tanto que el hueso compacto esta en su mayoría en las diáfisis del hueso. La figura 1.2 presenta un esquema de esta descripción (tomado de Park, 1992).

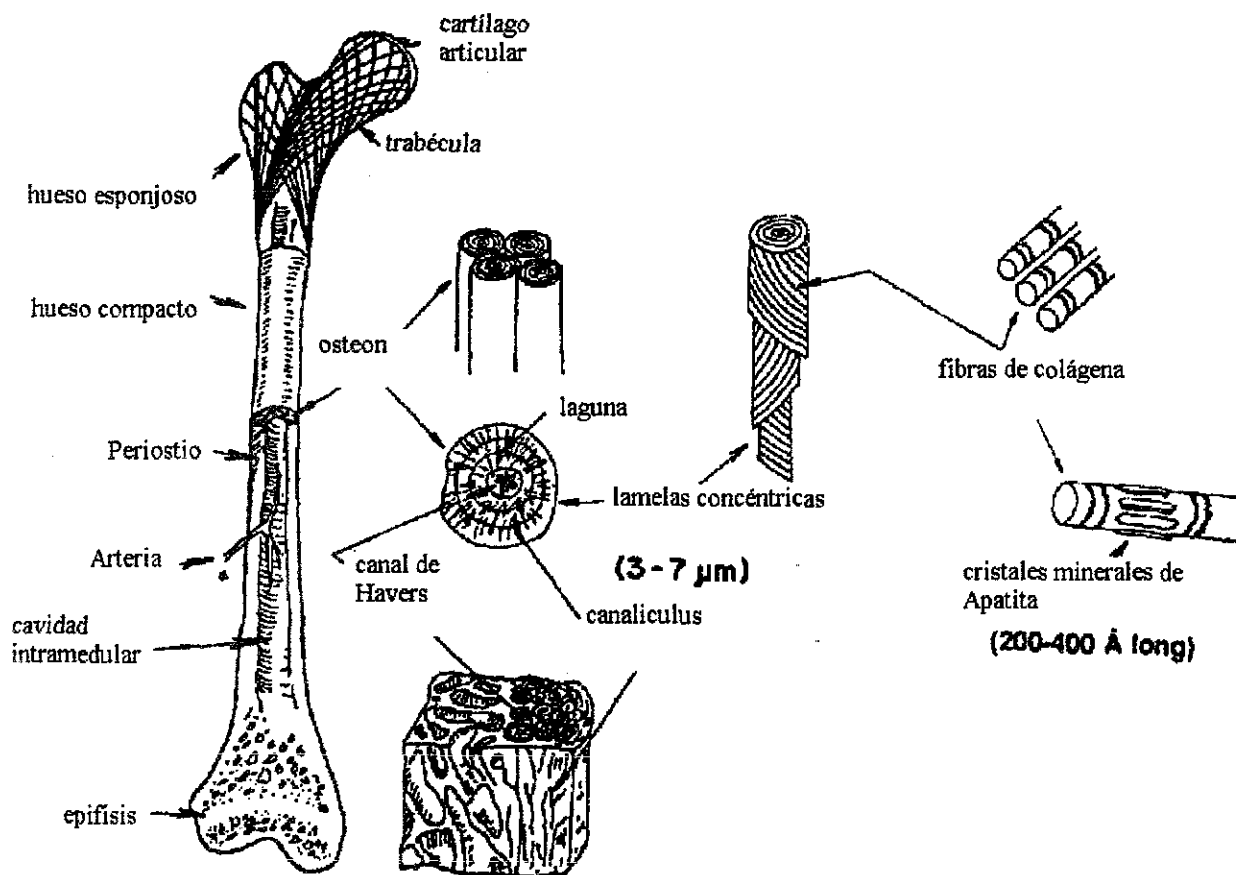


Figura 1.2 Esquema de hueso largo humano.

En esta figura se puede apreciar de manera esquematizada al hueso esponjoso y compacto. Se muestra la disposición de las lamelas en los canales de Havers y las fibrillas de colágena que están arregladas en hojas laminares que corren helicoidalmente a lo largo del eje cilíndrico del osteón.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

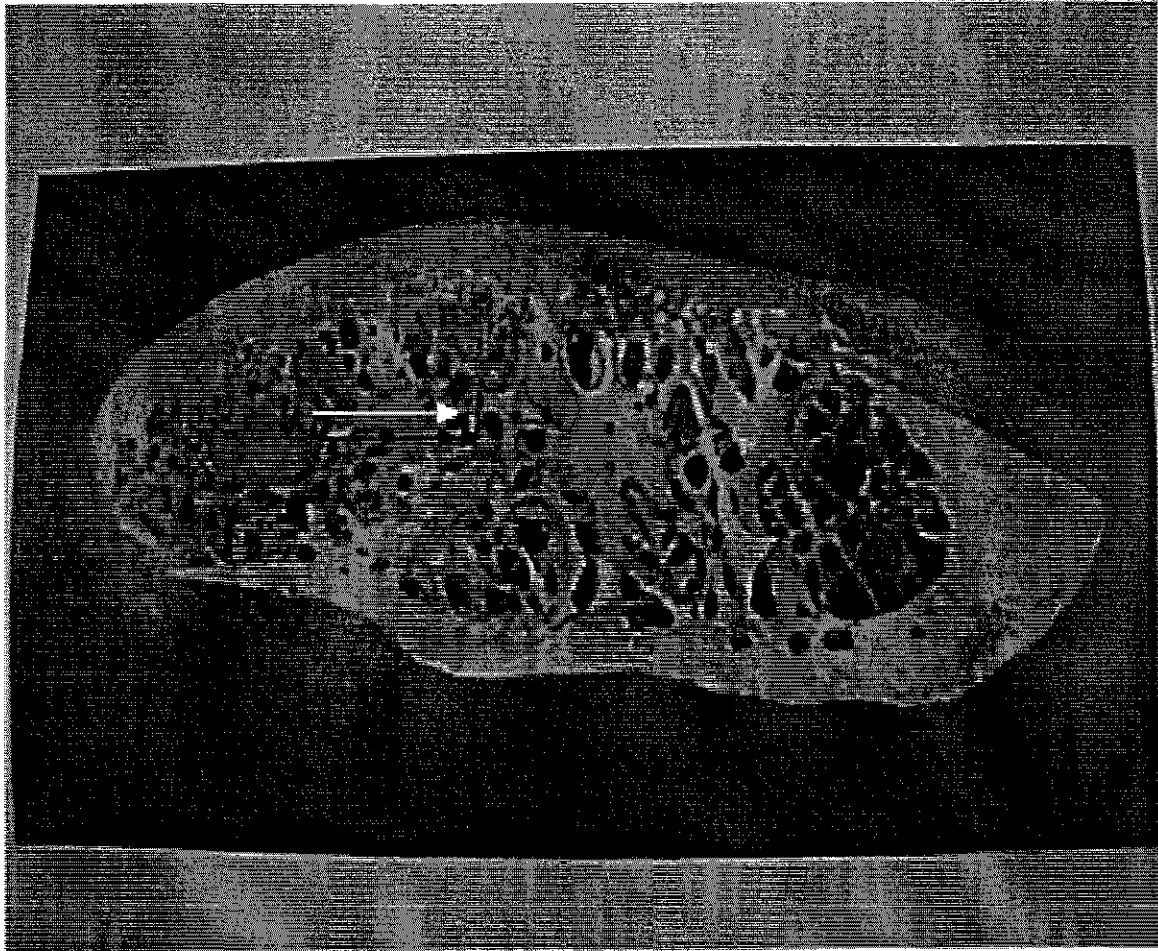


Fig. 1.3. Hueso esponjoso de *Bos taurus* se marca con flecha las trabéculas óseas interdispersadas por la médula del hueso.

El hueso es considerado como un material "composito" (Ozin *et al.* 1997), y por esta razón se propone un modelo basado en dos componentes: la fase mineral y la orgánica. Cabe recordar que las propiedades del material "composito" son distintas de los materiales que componen cada fase, por lo que las propiedades físicas, como módulos de elasticidad, dureza, etc., debemos tratar de entenderlas como una interacción entre ambas fases ya que cada una por separado no nos dará la misma resultante. Es decir, que aunque es necesario estudiar cada fase por separado, para caracterizarla físicamente es importante recordar que la función es la suma de ambas fases por lo que la correlación entre estas no debe perderse de

vista. Según Hastings (1991) "un material compuesto: a) consiste de dos o más materiales física y mecánicamente separables, aunque en la práctica su separación puede ser muy difícil, b) está hecho de tal forma que el producto resultante tiene las propiedades óptimas obtenidas por medio de la dispersión de un material en el otro y, c) las propiedades del "compuesto" no pueden ser obtenidas por el uso separado de los materiales". También apunta que la alineación de las fibras en el hueso trabecular es muy precisa al mismo tiempo que compleja en relación a la cabeza del fémur.

Estudios ultraestructurales de la colágena y los cristales de hidroxiapatita en el hueso, muestran que están íntimamente relacionados (Weiner, 1986). Se ha reportado que existe un efecto entre el grado de mineralización del hueso y sus propiedades mecánicas, en donde se postula que a mayor grado de mineralización se presenta un mayor módulo de elasticidad y fuerza de flexión pero una menor dureza, concluyendo que es la fase orgánica la que provee de dureza y absorción de energía al hueso.

Tabla 1.2 Comparación entre el contenido mineral en porcentaje y propiedades mecánicas del hueso en tres especies biológicas.

Tipo de hueso	fractura J/m ²	Flexión Mpa	Módulo de Young GPa	contenido mineral% peso	densidad g/cm ³
cuerno de alce	6190	179	7.4	59.3	1.86
fémur de vaca	1710	247	13.5	66.7	2.06
bullas de ballena	200	33	31.3	86.4	2.47

Los datos de esta tabla ilustran el concepto de que a un mayor grado de mineralización se presenta un mayor módulo de elasticidad, pero una menor dureza, como se observa en la columna de fractura. (Tomado de Currey, 1981).

En la Tabla I.2 podemos objetar que se están comparando datos de diferentes estructuras anatómicas, no sólo de distintas especies, pero se ilustra el concepto del autor. Por otra parte, está reportado en estudios histológicos en donde se descalcifica el hueso para su estudio, que a nivel anatómico conserva su aspecto, pero no su dureza, en donde se describe incluso que el hueso puede ser doblado hasta hacer un nudo.

Por otra parte, se propone que la matriz ósea es la responsable de las extraordinarias propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras colágenas le proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales le confieren dureza y rigidez y resistencia a la compresión. De hecho esta estructura es muy similar a la que se trató de conseguir cuando se desarrolló el hormigón armado. En este material de construcción el entramado de hierro realiza un papel funcional similar al que en el hueso llevan a cabo las fibras colágenas y el hormigón realiza el papel funcional que en el hueso lleva a cabo el mineral (Serrano, 1998).

El hueso maduro se compone como ya se mencionó de una matriz orgánica que contiene de un 90 a un 95% de fibras colágenas y un 5% de un medio homogéneo llamado sustancia fundamental constituida por líquido extracelular, muco proteínas, sulfato de condroitina y ácido hialurónico. El hueso compacto tiene en promedio un 30% de matriz orgánica y un 70% de sales. El hueso de nueva formación puede tener un promedio de matriz orgánica mucho mayor.

Las sales cristalinas del hueso que se depositan en la matriz orgánica se componen sobre todo de calcio y fosfato, la más importante es la hidroxiapatita (Guyton, 1989).

En el plasma existe pirofosfato que inhibe la precipitación de los cristales de hidroxiapatita en tejidos normales aunque exista en un estado de sobresaturación de las sales iónicas.

La etapa inicial de la formación del hueso es la secreción de moléculas de colágena y de sustancia fundamental por los osteoblastos. La colágena se polimeriza dando lugar a fibras colágenas, el tejido resultante se vuelve osteoide. Este es un material que se parece al cartílago pero difiere de éste en que permite la precipitación en su interior de sales de calcio.

Poco después de formado el osteoide se empiezan a precipitar sales de calcio en las superficies de las fibras de colágena. Estos precipitados aparecen periódicamente formando nidos diminutos que se multiplican rápidamente y crecen durante un período de días y semanas hasta llegar al producto terminado, la hidroxiapatita.

Las sales iniciales de calcio que se depositan no son cristales de HA sino compuestos amorfos, como una posible mezcla de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y otros. Luego por un proceso de sustitución y adición de átomos, estas sales se reforman pasando a constituir cristales de HA. No obstante hasta un 20 o 30% puede quedar en forma amorfa lo que es importante desde el punto de vista fisiológico ya que éstas sales se pueden extraer con rapidez cuando se necesita más calcio en el líquido extracelular.

Es importante recalcar que el hueso cumple entre otras funciones, una actividad metabólica fundamental que es la de permitir el intercambio de minerales (iones calcio y fosfato) con la sangre, es decir este tejido representa un almacén de estos

elementos para satisfacer las necesidades generales del organismo. Normalmente existe un equilibrio entre la oferta y la demanda de minerales óseos, con depósito en la síntesis del hueso en algunas zonas del esqueleto y con destrucción ósea en otras zonas, teniendo ambos procesos la misma velocidad (Rasmussen, 1970). Esta actividad es regulada por los osteoblastos y osteoclastos respectivamente (Guyton, 1986).

Cuando esta actividad fisiológica se ve alterada, es decir, el índice de formación y destrucción ósea $F/D=1$, se desequilibra se presentan enfermedades tales como la osteoporosis en la que disminuye el tejido óseo (tanto el mineral como la matriz), *presumiblemente debido a que la reabsorción osteoclástica supera a la formación osteoblástica*. Esta enfermedad es frecuente en mujeres posmenopáusicas y pacientes con inmovilización prolongada. Se desconocen los factores que precipitan el desequilibrio aunque parece ser que la terapia de reemplazo hormonal tiene efectos benéficos así como la adición de flúor y calcio suplementario en la dieta.

También se sabe que la vitamina C es necesaria para la síntesis de colágena ya que su déficit, además de causar escorbuto, afecta a la matriz ósea producida durante esta enfermedad ya que no calcifica (Ross, 1997). La falta de vitamina D provoca una mineralización inadecuada y dando lugar a la osteomalasia, su exceso produce pérdida de hueso. Fisiológicamente la vitamina D actúa a nivel de intestino para la absorción del calcio, en hueso estimula la síntesis proteica de los osteoblastos y participa en la mineralización de la matriz ósea (Morris, 1997).

La paratohormona (PTH) actúa de modo directo en el hueso aumentando su resorción y movilizándolo calcio. Además de incrementar el calcio y deprimir el fosfato plasmático, tiene un efecto fosfatúrico es decir, se estimula la excreción urinaria de fosfato. La PTH también incrementa la formación de 1,25 dihidroxicolecalciferol que a su vez aumenta la absorción intestinal del calcio. En una escala de tiempo más prolongada la PTH también estimula a los osteoclastos

y a los osteoblastos, predominando el efecto sobre los osteoclastos de tal modo que hay una mayor movilización de calcio desde el hueso. Cuando la concentración plasmática de calcio es alta se inhibe la secreción de PTH y éste se deposita en los huesos, cuando la concentración es baja la secreción de PTH se estimula y el calcio se moviliza desde los huesos (Ganong, 1995).

El grado de mineralización es un factor que puede reflejar la calidad del hueso (Lindth, et al. 1997; Hobson y Beynon, 1997; Pluskiewicz *et al.* 2000; Von Wovern 1986, Taguchi, *et al.* 1997) En este caso, el hueso alveolar en especial se ve sujeto a enormes presiones por parte del proceso natural de la masticación, como interfase de amortiguamiento entre la mandíbula y el diente, además del proceso de reabsorción que se presenta al hacer exodoncias. Esto es lo que hace interesante su estudio a nivel ultraestructural, ya que actualmente las técnicas de implantes dentales tienen o no éxito dependiendo de la calidad del hueso alveolar por lo que la comprensión de éste se hace necesaria a un nivel de investigación básico.

La mandíbula es una estructura muy compleja en términos biomecánicos, constituida por dos articulaciones ligadas a los poderosos músculos elevadores masticatorios en dos ramas ampliamente separadas. Los músculos depresores están ligados principalmente a la parte anterior del cuerpo. En el estado dentado las fuerzas son transmitidas de los dientes a través del hueso alveolar al hueso basal el que sufre la carga ténsil, de torsión y de carga. La pérdida de los dientes puede resultar en un proceso de reabsorción por desuso del hueso alveolar pero la mandíbula está aún sujeta a estas cargas (Hobson, 1997).

La mandíbula está compuesta principalmente por hueso cortical, en tanto que la masa del hueso trabecular es pequeña. Las raíces de los dientes ocupan la mayoría del proceso alveolar y el canal mandibular pasa a través del hueso trabecular en las regiones molares y premolares del cuerpo mandibular, posterior al forámen mentoniano (Von Wovern, 1986)

El proceso alveolar, es la porción del maxilar y la mandíbula (huesos basales que forman la cavidad ósea en que se aloja y sostiene el diente). No hay un límite preciso entre el hueso alveolar y el resto de hueso de las mandíbula. No obstante, el hueso alveolar en sí consta de dos regiones distintas: 1) Una capa externa de hueso compacto, la lámina dura; y, 2) Una zona interna de hueso esponjoso, cuya cantidad varía en diferentes lugares (Orban, 1955).

La lámina dura muestra numerosas perforaciones para dar paso a los vasos sanguíneos, que van de la médula ósea al ligamento periodontal. Por esta razón, a la lámina dura se le llama con frecuencia lámina cribiforme (Orban, 1955). También se puede encontrar un tercer tipo de hueso en relación con el hueso alveolar. Este es el hueso entretrejido (dispuesto en haces), que reviste los alvéolos después de que los dientes han sido sometidos a una presión. Este hueso no-laminar se encuentra donde las fibras principales del ligamento periodontal se anclan en forma de fibras de Sharpey (Davies, 1986).

De conformidad con las leyes fundamentales de la osteología, el hueso se reabsorbe en el lado medial y se forma en el lado distal. El hueso nuevo que se deposita con rapidez en el lado distal es hueso entretrejido. De esta manera, la presión estimula la reabsorción del hueso alveolar, en tanto que la tensión estimula su formación, lo que constituye la base de la ortodoncia. (Davies, 1986).

La función primaria del ligamento periodontal es sostener al diente dentro de su cavidad ósea. El grosor de esta estructura varía entre los diferentes individuos, así como entre las diferentes regiones de la misma estructura. Una escala normal para el grosor de este ligamento parece ser de 0.1 – 0.43 mm en humanos. En general parece haber relación entre el movimiento fisiológico del diente y el grosor del ligamento (a mayor movimiento, mayor grosor; y viceversa).

El ligamento periodontal puede ser afectado por traumatismos. En casos graves el diente se puede fusionar con el hueso de la mandíbula, proceso llamado anquilosis. Cuando ocurre, el ligamento periodontal es sustituido en realidad por hueso (Davies, 1986).

El ligamento periodontal es una zona de tejido conectivo denso, situado entre el cemento y la pared del alvéolo. Está formado principalmente por diversos haces de fibras de colágeno, cada una con una orientación específica y precisa. Los tipos de colágena que se incluyen son el I y el III. A causa de su composición de fibras colágenas, es que se utiliza el término ligamento para describir la estructura y función de este tejido especializado. En relación directa con las fibras colágenas, hay una sustancia fundamental amorfa de mucopolisacáridos, ácidos glucosaminoglicanos y proteoglicanos. Además de su componente fibroso, el ligamento periodontal posee numerosas células; diferenciadas e indiferenciadas. A causa de sus funciones de formación y síntesis, estas células son las encargadas de la conservación del ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar, ésto es, de los componentes del periodoncio.

Otros componentes de este tejido son: los restos epiteliales de Malassez, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y receptores nerviosos. En realidad, el ligamento periodontal es un tejido conectivo denso típico, que consta de células, fibras, y una sustancia fundamental amorfa (Davies, 1986).

CAPÍTULO II .- ESTRUCTURA DE LA HIDROXIAPATITA

Las apatitas en la Naturaleza comprenden un grupo importante de minerales que se presentan en ambientes geológicos. Todos los minerales del grupo son hexagonales. Substituciones químicas en la estructura del cristal llevan a una gran variedad de especies en el grupo. Seis de estas especies son apatitas de fosfato de calcio (Smith, 1994), dentro de las cuales se encuentran las apatitas biológicas. La similitud en los patrones de difracción de Rayos X del esmalte, la dentina y el hueso, en conjunción con los análisis químicos que muestran calcio y fosfato como constituyentes principales guiaron a la conclusión que las fases inorgánicas del hueso y los dientes son básicamente hidroxiapatitas de calcio, HA, idealizadas como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ (LeGeros,1991).

El esmalte, la dentina, y el hueso están formados principalmente por hidroxiapatita la que difiere en el contenido de agua, cantidad y contenido de componentes orgánicos, fase de apatita inorgánica, difiriendo en el tamaño del cristal y en la concentración de algunos elementos menores, especialmente carbonato y magnesio. Dentro de la fase apatítica es importante el tamaño del cristal, su morfología y orientación así como la organización de los cristales biológicos con respecto a la matriz orgánica.

Mientras que las apatitas de la dentina y el hueso dan patrones de difracción similares de Rayos X, en el espectro de absorción IR las diferencias de la concentración de elementos menores (ejemplo, Magnesio, carbonato, HPO_4^{-2}) causa variaciones en su estabilidad química y térmica. El CO_3 y el F^- tienen efectos antagónicos sobre estas propiedades (Le Geros, 1991).

El mayor tamaño de los cristales del esmalte (HA) comparado a la dentina y al hueso puede atribuirse parcialmente a la mayor concentración de CO_3 y Mg en dentina y hueso basado en su efecto sinérgico sobre las apatitas sintéticas (Le Geros, 1991).

En la tabla II.2 se ilustran de manera comparativa estas diferencias entre esmalte, dentina y hueso en humanos adultos (Le Geros,1991)

Tabla II.1 comparativa de composición y fases inorgánicas de esmalte, dentina y hueso en humanos adultos (tomado y modificado de Le Geros, 1991)

Composición ^a	Esmalte	Dentina	Hueso
Calcio, Ca ^{2+b}	36.5	35.1	34.8
Fósforo, P	17.7	16.9	15.2
(Ca/P) ^b	2.06	2.08	2.29
Sodio, Na ^{+b}	0.5	0.6	0.9
Magnesio, Mg ^{2+b}	0.44	1.23	0.72
Potasio, K ^{+b}	0.08	0.05	0.03
Carbonato, CO ₃ ^{2-c}	3.5	5.6	7.4
Fluoruro, F ^{-b}	0.01	0.06	0.03
Cloruro, Cl ^{-b}	0.30	0.01	0.13
Pirofosfato P ₂ O ₇ ^{4-d}	0.022	0.10	0.07
Total-inorgánico (mineral)	97.0	70.0	65.0
Total orgánico ^e	1.5	20.0	25.0
H ₂ O absorbida	1.5	10.0	10.0
Elementos traza: Sr ²⁺ · Pb ²⁺ · Zn ²⁺ · Cu ²⁺ · Fe ³⁺ ,etc ^d			
Tamaño del cristal Å	1,300 x 300	200 x 400	250 x 30

^a peso (%)

^b muestra en ceniza

^c método infrarrojo

^d valores reportados en literatura

^e principal componente orgánico: esmalte, no colágena; dentina y hueso, colágena.

Sin embargo, la apatita es una definición de estructura y no de composición . Cristalográficamente la estructura pertenece a un sistema hexagonal con un grupo de espacio $P6_3 / m$, caracterizada por un eje de 6 dobles perpendicular a 3 ejes equivalentes a ángulos de 120° entre sí (Le Geros, 1991).

Como ya se mencionó, la unidad más pequeña del cristal de la hidroxiapatita de calcio, HA, contiene 10 Ca, 6 PO_4 y 2 grupos OH. El arreglo atómico de esta unidad muestra una organización espacial de los átomos de Ca, tetraedros PO_4 y grupos OH con respecto a sí mismos (figura II.1).

Los iones OH se localizan en el centro de la celda unidad y son rodeados por dos series de átomos de Ca (II) arreglados en un patrón triangular a nivel $z = \frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$; por dos series de tetraedros de PO_4 también arreglados de manera triangular a niveles $z = \frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$ por un arreglo hexagonal de los átomos de calcio a distancia (Figura II.2) . Los 10 átomos de Ca son descritos como Ca (I) y Ca(II) de acuerdo a su entorno ; cuatro átomos de Ca (I) ocupan posiciones a los niveles $z=0$ y $z = \frac{1}{2}$ seis átomos de Ca (II) ocupan posiciones a niveles $x=1/4$ y $x=3/4$ en grupos de tres. Los grupos OH mostrados como de una sola unidad en este arreglo están en realidad situados entre los triángulos imaginarios de Ca en un arreglo O_H_O_H paralelo al eje c.

Las dimensiones de la celda unitaria de la apatita se describen por ejes a, b, y c (0.9422 y 0.6880 nm respectivamente en el caso de la HA mineral pura o por la HA pura preparada por reacciones de estado sólido o por precipitación y síntesis a $1100^\circ C$). La unidad de celda se repite a sí misma en tres dimensiones para formar el cristal de apatita (LeGeros,1991).

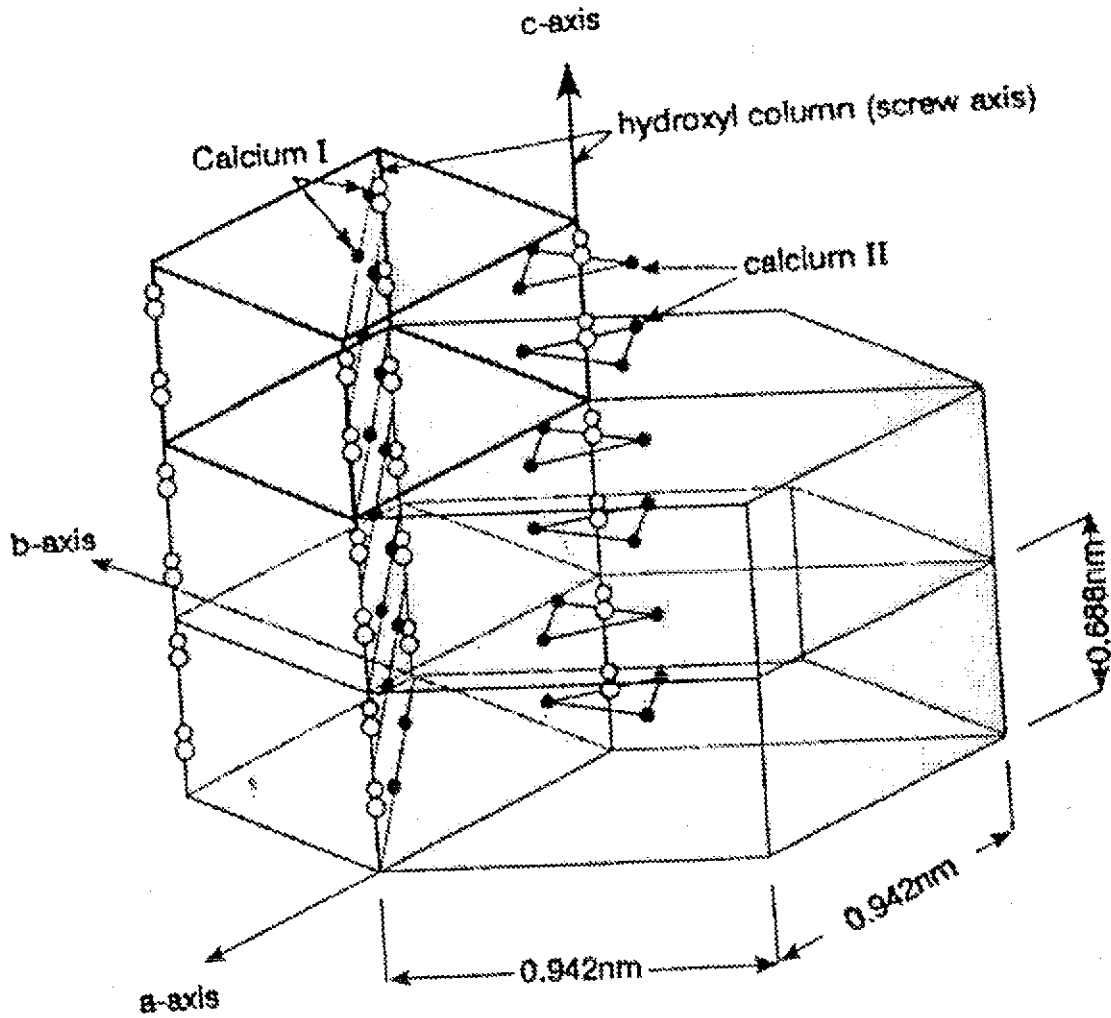


Figura II.1. Esquema de la celda unitaria de la hidroxiapatita.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

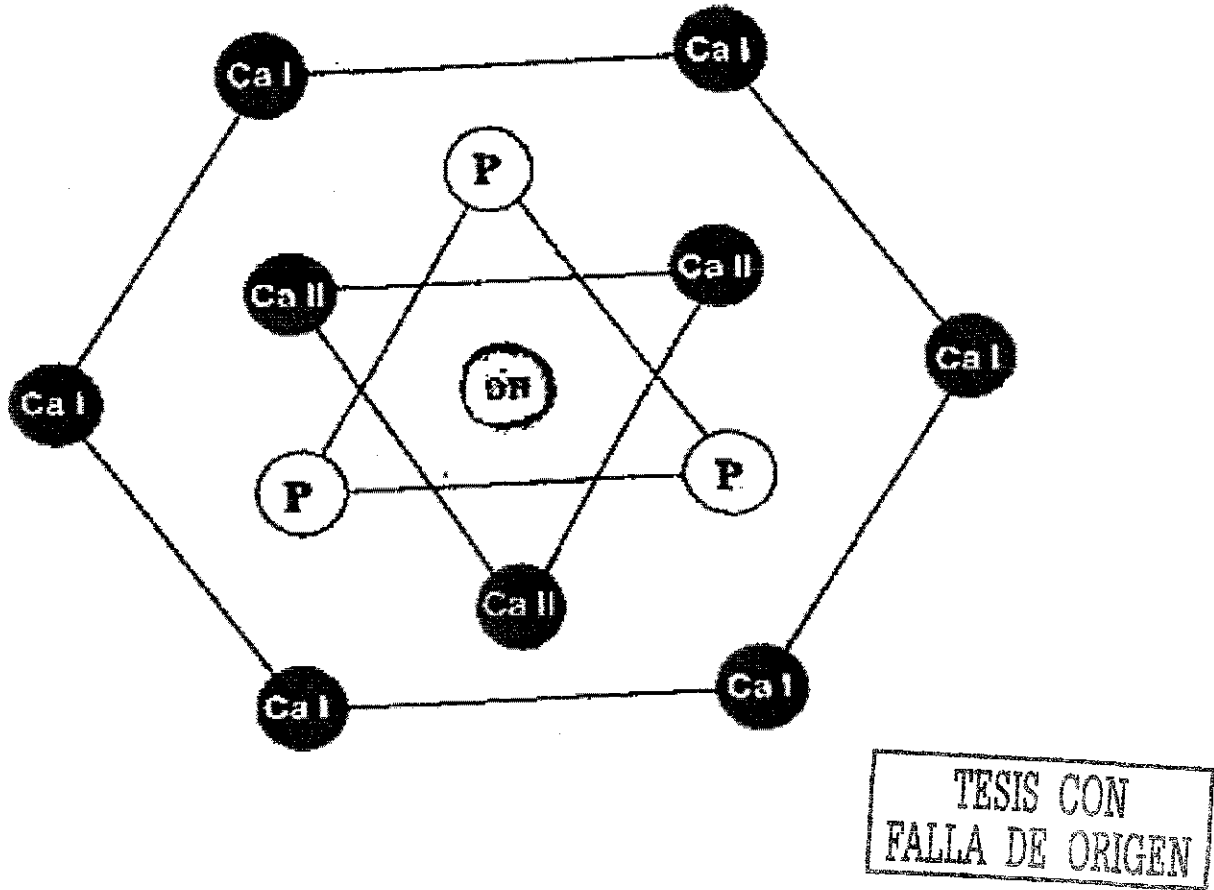


Figura II.2. Esquema de la posición de los átomos de Ca, P, y OH en la celda unidad de la hidroxiapatita.

La no estequiometría y la asociación con algunos elementos traza de las apatitas biológicas es de enorme relevancia para la investigación de biomateriales, especialmente los que son utilizados en una amplia gama de aplicaciones biomédicas como es el caso de la HA.

Según Le Geros (1994) a causa de las diferencias en composición y su heterogeneidad las apatitas biológicas deben de ser referidas como "hidroxiapatitas impuras". Las apatitas biológicas son microcristalinas (comparadas con las apatitas minerales), de composición variable y por lo tanto heterogéneas dentro de cada categoría de los tejidos calcificados y aún dentro de cada tejido varían por lo que su caracterización cristalino-química es sumamente compleja.

Como ya se mencionó, uno de los principales problemas es su no-estequiometría. La relación Ca / P muestra un rango de 1.54 a 1.73 comparada con el 1.67 de la hidroxiapatita pura; la presencia de impurezas estructurales o de superficie como, por ejemplo; Na⁺, Mg²⁺, F⁻, HPO₄²⁻, CO₃²⁻, P₂O₇⁴⁻, etc. y la coexistencia de posibles precursores como el DCPD, OCP, TCP, ACP.

Uno de los aspectos en que todas las apatitas biológicas son similares es que todas contienen carbonato en cantidades variables substituyendo al fosfato en la estructura de la apatita. Difieren en el tamaño de los cristalitos, su forma y otras propiedades físico-químicas como su susceptibilidad a la disolución ácida y estabilidad térmica. Los cristales del esmalte dental son de mayor talla que los de la dentina y el hueso, lo que se ve reflejado en sus patrones de difracción de Rayos X y espectro de absorción infrarroja.

Basándose en el estudio de sistemas sintéticos, algunas de estas "impurezas" están asociadas presumiblemente en las apatitas biológicas de la forma en que lo muestra la tabla II.2

Tabla II.2. Posibles grupos de substitución en las apatitas biológicas

Ca_{10}	$(PO_4)_6$	$(OH)_2$
Sr, Na,	CO ₃	Cl, F
K, Mg,	HPO ₄	H ₂ O
Z	P ₂ O ₇	CO ₃

Z = Pb, Ba, Zn, Fe, y otros substituyentes catiónicos.

Considerando a la apatita biológica como una hidroxapatita de calcio, otras "impurezas" pueden substituir al Ca^{2+} PO_4^{3-} , o al OH^- en tanto que otras sólo pueden estar solamente unidas en la superficie. Basándose en observaciones de sistemas *in vitro*, algunas de estas impurezas afectan su cristalinidad, morfología y parámetros de red, dando como consecuencia una mayor o menor estabilidad a los tejidos involucrados. El efecto de algunas de estas impurezas se describen a continuación provenientes de estudios *in vitro* (Le Geros, 1994).

Carbonato. Su incorporación está acoplada con una de Na^+ , en las apatitas biológicas la substitución es predominantemente de CO_3 por PO_4 . La cantidad de incorporación del carbonato es influenciada por la presencia de otros iones como el Na^+ , K^+ , Sr^{2+} , los dos primeros favorecen su incorporación, en tanto que el último la limita. La incorporación del carbonato en la apatita causa reducción en el tamaño del cristal, cambios en la morfología de agujas a cilindros, contracción en el eje a y expansión del c; causa inestabilidad química incrementando la solubilidad y disminuye la estabilidad térmica. Considerando sólo al carbonato las diferencias de cristalinidad entre el esmalte, el hueso y la dentina pueden explicarse por lo menos parcialmente. La apatita con menos carbonato es la del esmalte, tiene mayor cristalinidad que la que tiene mayor contenido de carbonato como son la dentina y el hueso, también se puede explicar las diferencias de solubilidad en soluciones ácidas, siendo el esmalte el menos soluble de los tres (Le Geros, 1994).

Flúor. En los tejidos humanos, apatitas de flúor, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, se substituyen cuando son ingeridas o aplicadas tópicamente tanto en esmalte como en hueso. El efecto observado, es el de un aumento en el tamaño del cristal, incremento en la estabilidad química, es decir disminuye su solubilidad, e incremento en la estabilidad térmica. En general se puede hablar de un efecto estabilizador en la substitución de la apatita biológica de F^- por OH^- , por lo que se explica su efecto terapéutico en el tratamiento de caries y osteoporosis (Le Geros, 1994).

Cloro. Considerando que los fluidos biológicos presentan en gran cantidad a este ion, la pequeña cantidad de este encontrado en las apatitas biológicas, sugiere que se discrimina contra su incorporación, lo que está en marcado contraste con la incorporación del F⁻ aún cuando éste se presente en muy bajas concentraciones en el medio. La sustitución es de Ca₁₀(PO₄)₆Cl². No se han observado efectos sobre la cristalinidad a la incorporación del Cl⁻, sin embargo, se cree que las apatitas que lo contienen deben ser menos estables tanto química como térmicamente que las de flúor (Le Geros, 1994).

Fosfato ácido, HPO₃²⁻. La no estequiometría de las apatitas biológicas se ha atribuido a su presencia, tanto del unido en la superficie como del que substituye parcialmente al PO₄³⁻. La incorporación de HPO₄ por PO₄ causa expansión del eje a y una ligera contracción de las dimensiones del c. Por otra parte, el efecto directo de la incorporación del fosfato ácido en las propiedades de la apatita no se ha investigado (Le Geros, 1994).

Pirofosfato, P₂O₇⁴⁻. Su presencia en las soluciones que forman apatita suprime el crecimiento del cristal. Su presencia en los fluidos biológicos se ha asociado con la inhibición de la formación de cálculos urinarios y dentales, sin embargo, aún no se ha determinado si se presenta en superficie o en la estructura de la apatita (Le Geros, 1994).

Estronio, Sr²⁺. Substituye al calcio, y es uno de los constituyentes menores de impurezas, en el hueso se ha asociado con una menor solubilidad (LeGeros, 1994).

Otras impurezas. Cationes mayores que el Ca²⁺, tales como el Sr²⁺, Pb²⁺, Ba²⁺ se pueden incorporar a la estructura de la apatita con mayor facilidad que los cationes cuyo radio iónico es similar o menor que el del Ca²⁺, como el Na⁺, Li⁺, Mg²⁺ y Zn²⁺.

La única excepción es el K^+ cuyo tamaño pertenece a la primera categoría su radio iónico es mayor que el del Ca^{2+} , pero su incorporación es similar a los iones de la categoría de un radio menor. Las substituciones de estos cationes mayores al calcio causan la expansión esperada en los parámetros de red (LeGeros ,1994).

Las desventajas de la HA son que tiene baja resistencia al impacto, falta de reproductibilidad de propiedades, dificultad de procesamiento y fabricación.

Su resistencia mecánica es de 14 Mpa y su resistencia a la flexión es del orden de 110 Mpa en pruebas de densificación en barras de 4.8 cm. de largo, con sección transversal rectangular de 5 x 7 mm aplicando la prueba en cuatro puntos (Thomas,1980).

La HA es químicamente estable a temperatura y pH del cuerpo humano, 37°C, y pH mayor a 4.2 alrededor de 7, respectivamente (Newman,1958). A bajas temperaturas sólo la HA y el fosfato de calcio dibásico (DCP) pueden encontrarse en solución acuosa, la solubilidad de la HA se incrementa al disminuir el pH (Díaz, 1998). La deshidratación de la HA cuando se somete a tratamientos térmicos en ausencia de agua puede llevar a la conversión de esta fase a fosfato tricálcico.

Se sabe que a elevadas presiones de vapor ($P_{H_2O} = 6.5 \times 10^5$ Pa), la estructura de la HA se conserva por encima de los 1000°C (Lacout, 1992). Aún a temperaturas relativamente altas (aire, vacío y con un ambiente húmedo en ambos casos a 1300°C), la presencia de humedad promueve la estabilidad de la HA (Thomas, 1980).

Estequiométricamente la HA calentada en una atmósfera seca es estable hasta aproximadamente 850°C. Cuando es calentada en una atmósfera húmeda, la HA puede permanecer estable por arriba de los 1000°C con una presión atmosférica de agua suficiente para producir esta estabilidad estructural (Ratner, et al.1996).

Arriba de los 1000°C la forma estequiométrica de la HA se descompone a fosfato de óxido de calcio (COP), $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$, y α -fosfato tricálcico (α -TCP). A mayor calentamiento el α -TCP se transforma a β -TCP, esta última transformación se ha reportado que ocurre a 1120°C (Fix Heymann, Heinke, 1969; Reverdy, 1969).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO III.- TÉCNICAS DE ANÁLISIS

Los modernos estudios de la materia viviente tratan de la compleja jerarquía o niveles de organización que van desde células, tejidos, órganos, etc. que integrados dan por resultado las manifestaciones vitales del organismo. El estudio de estos niveles está limitado por el poder de resolución de los instrumentos utilizados. Así el ojo humano sólo puede resolver (discriminar) dos puntos separados por más de 0.1 mm (100 μ m). La mayoría de las células son mucho menores y necesitan del nivel de resolución del microscopio óptico (0.2 μ m) para ser estudiadas (De Robertis , 1987). En la tabla III.1 se ejemplifica este concepto, que fue el principio sobre el que se basó el diseño experimental de este trabajo de tesis.

Tabla III.1 Muestra la dependencia del poder resolutivo de los aparatos y métodos empleados en función del nivel estructural al que se pretende llegar en el estudio.

<i>Dimensión</i>	<i>Rama</i>	<i>Estructura</i>	<i>Método</i>
0.1mm y más	anatomía	órganos	ojo y lente simple
100 a 10 μ m	citología	tejidos	microscopía óptica
menos de 1 nm	ultraestructura	disposición de átomos	difracción de Rayos X , microscopía electrónica

Microscopía óptica (MO), electrónica de barrido (MEB) y análisis químico por espectrómetro de dispersión de energía (EDS).

El microscopio óptico consiste en una serie de lentes y en una fuente de iluminación. En principio se pretende contar con un sistema que focalice la luz, es decir que recoja la luz proveniente de cada punto del objeto y la use para formar una imagen. El sistema de lentes que está cerca del objeto recibe el nombre de objetivo y el que se encuentra en donde se coloca el observador se le llama ocular. El objetivo forma una imagen real invertida y aumentada del objeto, la cual reside en el espacio sobre el plano focal de la lente ocular. Los rayos que divergen de cada punto de esta imagen emergerán del ocular paralelos. El ocular aumenta la imagen intermedia aún más. Entonces el poder de aumento (PA) del sistema es el producto del aumento lineal transversal del objetivo, M_{TO} y el momento angular del ocular, M_{Ae} , es decir: $PA = (M_{TO}) (M_{Ae})$

Las lentes tienen una distancia focal fija, el enfoque y la amplificación se realizan cambiando la posición del objetivo por medio del revólver (Yacamán, 1995).

Los microscopios ópticos, aunque tienen una organización estructural similar, varían de acuerdo al sistema de iluminación y / o a la disposición del sistema óptico. Así hay varios tipos de microscopios ópticos, entre los que se encuentran el de campo claro (que puede estar basado en un sistema de iluminación de tipo Köhler), el de contraste de fases, el de luz polarizada, el de campo oscuro, etc.

En este trabajo se utilizaron los sistemas de campo claro y de campo oscuro.

El sistema de mayor uso es el de campo claro, en el cual, la imagen se forma a partir de muestras coloreadas o que presentan contraste o color natural. La luz es transmitida o absorbida por la muestra.

En el campo oscuro, se utiliza un condensador toroidal que permite que la luz incida de manera oblicua sobre la preparación, creando un campo oscuro. La muestra que intercepta la luz oblicua la hace incidir sobre el objetivo creando una imagen con brillo sobre un fondo oscuro (Jiménez,2001).

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El microscopio electrónico consiste fundamentalmente en un cañón de electrones (fuente de iluminación), lentes condensadoras, lente objetiva, lentes intermedias y lente proyectora. La amplificación de la imagen es llevada a cabo de la siguiente manera: la imagen producida por la lente objetiva sirve como objeto para la lente intermedia, la cual producirá una segunda imagen, que a su vez es amplificada por la lente proyectora para producir la imagen final en la pantalla.

Cuando el haz de electrones interacciona con la muestra se producen varios tipos de señales, las que nos permiten caracterizarla estructural y químicamente. Estas señales son electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y Rayos X . Los electrones retrodispersados y secundarios son la fuente de información para la microscopía electrónica de barrido, nos dan información sobre la superficie de la muestra, permitiendo de este modo obtener una imagen topográfica de ella. La imagen en la pantalla de televisión del MEB es un mapa de las intensidades de los electrones emitidos por la superficie de la muestra de la misma manera en que la imagen del microscopio óptico es un mapa de la luz reflejada de la superficie de la muestra en observación (Yacamán, 1995).

Análisis químico por EDS

El espectrómetro de dispersión de energía (EDS) es una técnica de microanálisis químico, que nos permite conocer qué elementos y dónde están localizados en una muestra observada en microscopía electrónica de barrido (MEB). Esta técnica es capaz de hacer una correlación a escala fina entre el análisis químico y la microestructura de la muestra dentro de una región menor de una micra de diámetro (Yacamán, 1995).

La técnica se basa en el "barrido" de un haz de electrones sobre la muestra, la colisión resultante puede en algunos casos resultar en la emisión de un electrón de los átomos de la muestra, el átomo puede regresar a su estado base, o a otro estado de baja energía, emitiendo un electrón de una capa superior o bien emitiendo un fotón. La emisión de fotones produce un espectro característico de Rayos X, mientras que los electrones emitidos son conocidos como electrones Auger. Ambos efectos son importantes para el microanálisis estructural debido a que sus energías son características de los elementos que los emitieron, y es precisamente la medida de estas energías lo que permite el análisis químico de la muestra (Yacamán, 1995).

Para excitar un átomo el haz electrónico debe tener una energía más alta que la energía crítica para sacar un electrón de un nivel dado. Por lo tanto, si el haz electrónico tiene la energía suficiente para excitar a los electrones de la capa K de un átomo es también capaz de excitar a los electrones de las capas L y M.

De esta manera las energías de los Rayos X característicos son clasificadas de acuerdo con el tipo de transición que las provocan. Por ejemplo, los Rayos X "K" resultan de una transición de un electrón de otro nivel hacia el nivel K, siendo lo mismo para los otros niveles "L" etc. También existen subniveles de energía dentro de los niveles K, L, M etc., y siendo que cada subnivel tiene diferente energía, los Rayos X relacionados con éstos varían también ligeramente, estas variaciones son

tomadas en cuenta y por ej. los Rayos X "K" son subclasificados como $K\alpha$, $K\beta$, $K\gamma$.

El procedimiento normal para hacer el microanálisis de una muestra es comparar la razón de conteo de un elemento dado, primero a partir de un área de la muestra y luego comparar con un espectro standard del elemento puro o de una aleación conocida. La razón de las intensidades, K , de los elementos de la concentración desconocida con las del standard es la medida experimental básica (Yacamán, 1995).

En el EDS se usa un detector de estado sólido colocado cerca de la muestra, el cual, al momento de su interacción con los Rayos X, produce un pulso eléctrico que es proporcional a la energía del Rayos X característico. Conociendo el número de pulsos y su intensidad, puede medirse la energía de los Rayos X y la composición química de la muestra.

Cabe destacar que este tipo de análisis es puntual y que debe tenerse en consideración el tamaño del barrido así como el grosor de la muestra entre otras variables que pueden afectar los resultados, pero que unida a otras técnicas como la de difracción de Rayos X nos provee de información muy valiosa sobre el material que se está investigando. (Boyde, 1996).

Rayos X

Los Rayos X son un tipo de radiación electromagnética, cuya región en el espectro electromagnético está entre 0.05 y 125 KeV. La radiación X se origina siempre que una partícula de muy pequeña masa y dotada de suficiente energía cinética, choca con la materia. Parte de dicha energía se invierte en la producción de Rayos X a causa de la perturbación que la colisión produce en el estado energético de los átomos del material bombardeado. Las partículas bombardeantes más eficaces, de más cómoda producción y más fácilmente controlables, son los electrones, recibiendo el nombre de tubo de Rayos X el dispositivo experimental correspondiente (Polonio, 1981). Los tubos de Rayos X actuales tienen un vacío

permanentemente (10^{-6} mm Hg) y los electrones son suministrados por un filamento de wolframio o tungsteno incandescente, que constituye el cátodo, y son acelerados contra el anticátodo por una diferencia de potencial de unos 20 a 100 kV entre cátodo y ánodo.

Cualquier especie cristalina produce siempre un diagrama de difracción característico, y si la muestra está constituida por una mezcla de diferentes especies, el diagrama correspondiente manifestará la suma de los efectos de difracción individuales de cada una de ellas. El diagrama de difracción puede ser considerado por tanto, como la "huella dactilar" de la fase cristalina que lo ha producido, pudiendo ser utilizado para su identificación. Cada compuesto cristalino tiene un diagrama de Rayos X característico estos diagramas están coleccionados en las fichas y libros del "Joint Committee on Powder Diffraction Standards" y agrupados en índices de compuestos orgánicos, inorgánicos y minerales.

La característica más importante de este método de análisis deriva del hecho de que la información que proporciona se refiere en exclusiva a la fase cristalina, íntegramente considerada, no en términos de los elementos que la constituyen, a diferencia del análisis químico que sólo proporciona información sobre los elementos constitutivos de la muestra pero no de las fases en las que se presentan (Mc Kelvey, 1996)

En el difractograma, el proceso de formación de los picos se debe a la intensidad observada en las reflexiones de los diversos planos cristalinos. El haz incidente de Rayos X se refleja especularmente en base al modelo de Bragg de acuerdo al cual $2d \sin \theta = n\lambda$ por lo tanto el Rayo X se difracta en forma característica, si medimos el ángulo de difracción y conocemos la distancia interplanar podemos medir λ y por lo tanto la energía asociada a esa reflexión.

En la técnica de polvos cristalinos, la muestra es un polvo tamizado para que las probabilidades de encontrar a cualquier plano en cualquier orientación aparezca en toda la muestra de manera que la información que se obtiene entre 0 y 80° en 2θ provenga de todas las orientaciones posibles que los polvos ofrecen. La resultante son los diversos sistemas (hkl) del cristal (familia de planos) interfiriendo en forma constructiva.

El difractómetro de polvo de Rayos X, SIEMENS D-5000 con monocromador secundario utiliza radiación $\text{CuK}\alpha$. Es un equipo de alta sensibilidad y reproducibilidad; utiliza un microprocesador que controla la operación del difractómetro en tiempo real. El microprocesador opera a través de comandos enviados desde una computadora. Posee un paquete de software y accesorios que permiten trabajar con películas delgadas y cámara de alta temperatura.

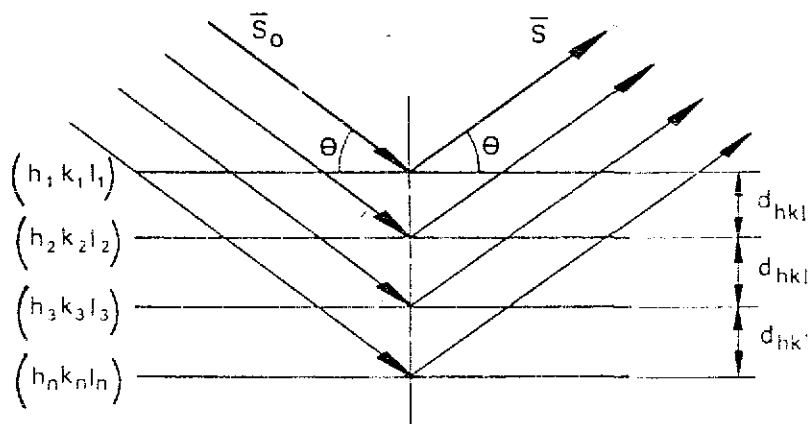


Figura III. 1. Esquema ilustrativo de la Ley de Bragg en donde se muestra como los diversos sistemas (hkl) del cristal (familia de planos) interfieren en forma constructiva.

Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (DTA y TGA)

El término de análisis térmico, cubre una serie de técnicas mediante las cuales es posible determinar las propiedades físicas y químicas de un material o muestra, como una función de la temperatura y/o el tiempo.

Las muestras para DTA y TGA se sujetan a programas de temperatura totalmente controlados, dentro de un rango de temperatura preseleccionado que puede ser desde el ambiente hasta los 1500°C, pudiendo programarse etapas de temperatura constantes, enfriamientos y rampas de calentamiento. Las señales obtenidas a partir de estos procesos térmicos revelan el comportamiento de estos materiales. Es así como la naturaleza cuantitativa del TGA entrega resultados precisos de una reacción donde está involucrado un cambio de peso. En cambio el DTA registra una diferencia de temperatura entre la muestra y un patrón de referencia totalmente conocido (Speyer, 1994).

La técnica de DTA se basa en el hecho de que cuando una sustancia o material es calentado, es decir se introduce energía al sistema, ésta sufre reacciones y cambios que involucran la emisión o absorción de calor (Speyer, 1994).

Como ya se mencionó, la temperatura del material que está siendo analizado es medida en relación a un material de referencia, generalmente alúmina cuyo punto de fusión es de 2050°C y que no pasa por transformaciones en el rango de temperatura de interés. Tanto la muestra como el material de referencia se someten al mismo régimen de calentamiento, y lo que se registra en el aparato a través de termopares es la diferencia de temperatura entre ambas. Los instrumentos de registro miden las diferencias entre ambas vía voltaje a través de las terminales de los termopares que están en proximidad pero no en contacto con ellas. Los resultados se muestran en forma de curvas térmicas. El eje "y" registra la diferencia de temperatura (ΔT) entre la muestra y la temperatura de la referencia,

en tanto que el eje "x" se registra la temperatura del sistema, en este eje es posible equiparar la temperatura al tiempo ya que el sistema es sometido a un régimen de calentamiento preestablecido (Speyer, 1994).

La cantidad de calor involucrada y la temperatura a la que los cambios toman lugar son característicos de los elementos individuales o compuestos, lo que permite hacer su identificación. Por otra parte, cuando la muestra sufre una transformación absorberá o desprenderá calor (reacciones endotérmicas y exotérmicas respectivamente) lo que genera una curva característica.

El área debajo de las gráficas obtenidas a través de esta técnica se relacionan con el cambio energético de la muestra durante cada transformación e integrando podemos conocer la cantidad de calor involucrada ya sea éste emitido o absorbido durante el proceso. A presión constante esta área físicamente representa la entalpía.

La velocidad del cambio a la que estas transformaciones toman lugar se determina calculando la derivada, que con los aparatos de registro actuales y los programas de computo puede ser registrada punto por punto, lo que nos proporciona un registro exacto de lo que esta sucediendo en el material de estudio.

El análisis termogravimétrico (TGA) es el estudio de los cambios de peso de un espécimen como función de la temperatura. Este tipo de análisis se define como un método de cambio dinámico de masa, donde la masa de la muestra es medida como función de la temperatura, mientras la muestra es sometida a un programa de temperatura controlado. De igual manera que en el DTA los resultados de los aparatos de registro se obtienen a manera de gráficas, en donde el eje "y" registra el peso en porcentaje y el eje "x" la temperatura.

Es importante recalcar que la precisión de los aparatos así como su adecuada calibración son indispensables en este tipo de registros ya que los hornos utilizados para éstos, son casi siempre calentados por resistencias eléctricas y para validar las temperatura termoanalíticas se debe mantener un control estricto sobre el régimen térmico al que las muestras son expuestas.

La temperatura de inicio se especifica como la temperatura del horno en cualquier momento y es generalmente una isoterma o rampa de calentamiento lineal que tiende a una pequeña oscilación cerca de la temperatura inicial sobre el control encendido-apagado del horno. (Speyer,1994; Reverdy,1969; Gómez, 1997).

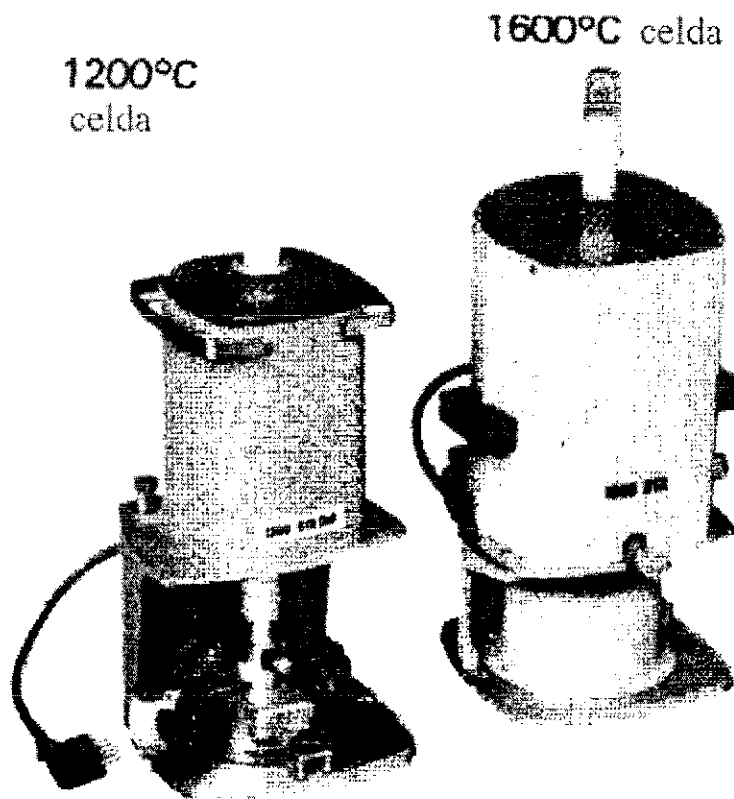


Figura III.2. Esquema de hornos de DTA.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Espectroscopía infrarroja (IR).

La espectroscopia se basa en que cada elemento químico tiene una distribución electrónica característica. La comparación del espectro completo del elemento con un espectro conocido simplifica su identificación. Al excitar una muestra desconocida mediante una fuente de energía, el análisis del espectrógrafo puede determinar de qué elemento se trata. El análisis espectral se basa en que la luz se emite y se absorbe en unidades o corpúsculos llamados fotones o cuantos. La energía de cada fotón es directamente proporcional a la frecuencia (ν), por lo que es inversamente proporcional a la longitud de onda λ . Esto se expresa con la siguiente fórmula: $E = h\nu = hc/\lambda$ donde el factor de proporcionalidad h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz en el vacío.

Los diferentes colores o longitudes de onda (y, por lo tanto las diferentes energías) de los cuantos de luz emitidos o absorbidos por un átomo o molécula dependen de la estructura de éstos y de los posibles movimientos periódicos de las partículas que los componen, ya que estos dos factores determinan la energía total (potencial y cinética) del átomo o molécula. Un átomo está formado por su núcleo, que no contribuye a la emisión y absorción de la luz porque es pesado y se mueve con mucha lentitud, y los electrones que lo rodean, que se mueven rápidamente en múltiples órbitas, el átomo emite o absorbe un cuanto de luz de un color determinado cuando uno de sus electrones salta de una órbita a otra. Los componentes de una molécula son los núcleos de los diferentes átomos que la forman y los electrones que rodean cada núcleo. La emisión y absorción de luz por parte de una molécula corresponde a sus diferentes modos de rotación, a los modos de oscilación de sus núcleos atómicos y a los movimientos periódicos de sus electrones en las distintas órbitas. Siempre que cambia el modo de oscilación o rotación de una molécula también cambian sus movimientos electrónicos y se emite o absorbe luz de un color determinado.

Por lo tanto, si se pueden medir las longitudes de onda de los fotones emitidos por una molécula o átomo, es posible deducir información sobre su estructura y sobre los distintos modos de movimiento periódico de sus componentes. (Enciclopedia Encarta, 2000).

La región del espectro electromagnético conocida como IR está junto a la región visible del espectro. Las ondas infrarrojas a menudo se les conoce como ondas de calor porque provocan esta sensación en la piel humana y porque las fuentes de estas ondas son usualmente sólidos calentados. Sin embargo, la descripción más apropiada y exacta es infrarrojo. Esta región del espectro es de gran importancia práctica y teórica a causa de su información definida sobre la estructura molecular. En esta región se encuentran los espectros rotacionales y vibratorios de las moléculas, es decir, la manifestación de los cambios en la energía rotacional y vibratoria de las moléculas que se puede presentar bajo condiciones de la interacción de la radiación infrarroja con la materia. Las frecuencias rotacionales y vibratorias que se presentan y otras cantidades observadas experimentalmente son directamente dependientes de ciertas constantes moleculares, por ejemplo, las constantes de fuerza entre los átomos y los momentos de inercia cerca de ciertos ejes. Estas constantes moleculares pueden ser calculadas en base a modelos.

La radiación infrarroja, igual que las otras regiones del espectro, se caracteriza por su longitud de onda y el micrón (μ) es generalmente usado como la unidad. Sin embargo, también por convención se utiliza otra unidad donde la radiación se caracteriza estableciendo el número de ondas contenidas en un centímetro de longitud. Este número, el recíproco de la longitud de onda en unidades de centímetros, es conocido como el número de onda, su unidad es el recíproco del centímetro (cm^{-1}). La relación entre el número de onda ν y la longitud de onda λ es como sigue: $\nu(\text{cm}^{-1}) = 1/\lambda \text{ cm} = 1000000/\lambda(\mu)$.

El número de onda $\bar{\nu}$ no debe confundirse con la frecuencia ν . Este último tiene dimensiones de tiempo recíproco y usualmente se mide en ciclos por segundo o en unidades Hertz ($1 \text{ Hz} = 1 \text{ seg}^{-1}$ o una vibración cada segundo). La relación con la longitud de onda es: $\lambda \cdot \nu = c$ donde c es la velocidad de la luz en el vacío. La relación entre el número de onda y la frecuencia es: $\bar{\nu} = \nu/c$. Es decir, el número de onda de una vibración es proporcional a la frecuencia y el factor de proporcionalidad es el recíproco de la velocidad de la luz.

Debe considerarse que la frecuencia ν es una constante fundamental para el proceso, y la velocidad de la luz varía de acuerdo al medio en que la vibración tiene lugar, entonces, un número de onda diferente y longitud de onda se encontrarán para la misma vibración de acuerdo al medio en que las medidas experimentales son tomadas.

La región del espectro puramente rotacional se encuentra en un rango de longitud de onda arriba de 50μ (abajo 200 cm^{-1}) y el espectro de la región fundamentalmente vibracional va de $2.5\text{-}25\mu$ (4000 a 400 cm^{-1}).

El análisis de las frecuencias que son absorbidas por un sistema se hace irradiándolo con todas las frecuencias del espectro y detectando cuales no lo atraviesan o lo hacen en forma atenuada, para medir la potencia la luz emergente de la muestra se emplea el espectrofotómetro.

Básicamente, el espectrofotómetro consta de una fuente de radiación, de un sistema óptico que enfoca el haz sobre la muestra, de un monocromador que separa los componentes de la radiación (es decir, las distintas frecuencias) y de un detector de intensidad de radiación. El detector envía información de transmitancia o absorptividad al graficador, que la representa en función de la frecuencia proporcionada por el monocromador. El concepto se ilustra en el siguiente diagrama:

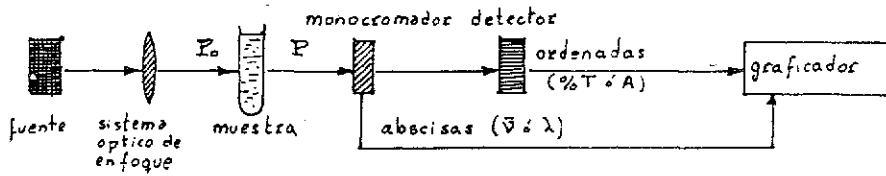


Figura III.3. Diagrama de espectrofotómetro de radiación infrarroja.

Los espectrofotómetros infrarrojos detectan la radiación, miden el efecto calorífico producido por ésta al ser absorbido por el detector. Consecuentemente los detectores IR son máquinas térmicas que convierten calor en otros tipos de energía, otra característica de los espectrofotómetros IR es la amplia zona espectral en que se usan. Como en general no hay disponibles materiales que sean transparentes en todas las zonas, se usa un sistema óptico a base de espejos y prismas de diversas sustancias. Las fuentes de emisión IR son radiadores térmicos cuyas características de emisión se aproximan a las del cuerpo negro (espectro continuo de frecuencias, radiación máxima y constante) (Schulz, 1993).

Todos estos principios físicos son la base del Procedimiento Experimental que se describe a continuación.

CAPÍTULO IV.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Obtención de las muestras:

En este trabajo se procesó una mandíbula humana con su dentición íntegra, donada por el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina UNAM, y se caracterizó tanto antropológica como anatómicamente. Posteriormente se realizó el estudio ultraestructural, lo que definimos como un primer nivel de integración ya que se ha reportado que la estructura y organización de las HAs del esmalte dental sufre cambios de organización dependiendo de la edad de los individuos (Reyes Gasga, *et al.* 1997).

La mandíbula obtenida estuvo fijada con la integridad del cuerpo en una solución conservadora de cadáveres de:

formol	5%
propilenglicol	5%
isopropanol	10%
benzal	1%
ácido fócnico	5%
agua	74%

Fue procesada para estudios anatómicos. Se obtuvieron sólo las partes óseas mandibulares y se les tomaron fotografías observando la integridad dentaria y mantenimiento óseo. Además, se obtuvieron radiografías panorámicas en la Facultad de Odontología Departamento de Radiología UNAM. Se tomaron radiografías periapicales de la mandíbula para ubicar la posición dental y se cortó en cinco secciones de acuerdo a las piezas de una raíz, (incisivos, caninos y premolares), los segundos molares y los terceros molares. El equipo de Rayos X para radiografías periapicales fue un Panorex 2 Keystone.

Posteriormente se procedió a realizar los cortes gruesos con disco de acero en una fresadora ARVORE a 130 rpm enfriándose la muestra con agua durante todo el proceso.

Los cortes finos se hicieron con disco de diamante para las preparaciones en microscopía electrónica y para la obtención de polvos que después se utilizaron para difracción de Rayos X y los experimentos de DTA y TGA e infrarrojo. Estos cortes se realizaron en el taller de instrumentos del IFUNAM.

Preparación de muestras para MEB

El corte en forma de placa obtenido del tejido duro, se montó en un portamuestras cilíndrico para MEB. Se fijó con cinta adhesiva de doble cara y se recubrió la muestra con una película de carbón en una evaporadora. Posteriormente se les dio un segundo recubrimiento con oro para aumentar la conductividad de la muestra. Estas muestras no fueron atacadas químicamente ni pulidas o sometidas a cualquier otro tratamiento, sino que se observaron en su integridad al MEB, obteniéndose de esta manera el análisis químico para cada una de las estructuras analizadas. Se usó un microscopio JEOL JSM-5800 LV con un analizador EDAX – DX PRIME integrado. Para el recubrimiento de oro se utilizó un Sputtering Denton Vacuum Desk II por 30 segundos. Estos equipos se encuentran en el CIMAV de Chihuahua, México.

Análisis químico con EDS

La muestra preparada para MEB se analizó con el mismo microscopio que cuenta con el dispositivo analítico integrado ya mencionado, barriendo las muestras tramo por tramo y obteniéndose la composición química de las tres estructuras mandibulares.

Preparación de muestras para difracción de Rayos X.

Se tomaron tramos del tejido duro a investigar (rama ascendente, hueso alveolar y cóndilo) y se procedió a su pulverización en un molino de bolas de ágata marca FRISCH. Se molió durante 15 minutos por cada muestra a una rotación de 4.5, se obtuvo un polvo fino que se tamizó con un tamizador de 200 mesh. Se usó un portamuestras de calentamiento para un difractómetro de Rayos X, SIEMENS D-5000 con monocromador secundario utilizando radiación de Cu K alfa con un rango de entre 2 a 80°. El rango de temperatura fue de 25 a 800 °C. La muestra se procesó en vacío a una presión de 4.2 a 4.3 x10⁻³ mBar permitiendo una hora de estabilización antes de tomar los difractogramas para cada caso. Este equipo pertenece al CIMAV de Chihuahua, México.

Tratamiento térmico de las muestras

Para el experimento de calentamiento del hueso alveolar la muestra se pulió y desbastó la muestra con la técnica standard de observación para MEB, sometiéndolo después a un ataque químico con ácido ortofosfórico al 42% por 30 segundos y dando un lavado de agua destilada antes de proceder a su observación al microscopio óptico y su registro a través de fotografía. Posteriormente se procedió al calentamiento de las muestras en un horno LINBERG SI B en un régimen de calentamiento de una hora por muestra en un rango de 100, 300, 500, 700 y 800°C. Seguido a este tratamiento se documentaron los cambios en microscopía óptica en un microscopio Zeiss modelo AXIOTECH. Después se recubrieron con una película delgada de carbón en una evaporadora a un vacío de 50 militorr, para su observación al microscopio electrónico de barrido (MEB), JEOL 5200 con resolución de 30 amstrongs obteniendo también registro microfotográfico. Este equipo se encuentra en el Instituto de Física de la UNAM

Muestras para DTA y TGA.

Para el análisis por DTA se utilizaron 5mg de polvo tamizado a 200 mesh de cada una de las tres estructuras mandibulares y fueron sometidas a una rampa de calentamiento de 20°C/min durante una hora hasta alcanzar una temperatura de 600°C desde temperatura ambiente. Se usó un aparato THERMAL ANALYSIS SYSTEM de DUPONT mod. 910 DSC. Este equipo pertenece al Instituto de Física de la UNAM. También se realizó un análisis simultáneo DTA-TGA de las muestras en un aparato T.A. Instruments SDT (TGA-DTA), modelo 2960. Perteneciente al CIMAV, Chihuahua, México.

Muestras para espectroscopia infrarroja.

Una de las técnicas más utilizadas en la preparación de muestras sólidas es la molienda, método que se conoce como de talcos, los que se prepararon como ya se describió en la sección de muestras para espectroscopia de Rayos X.

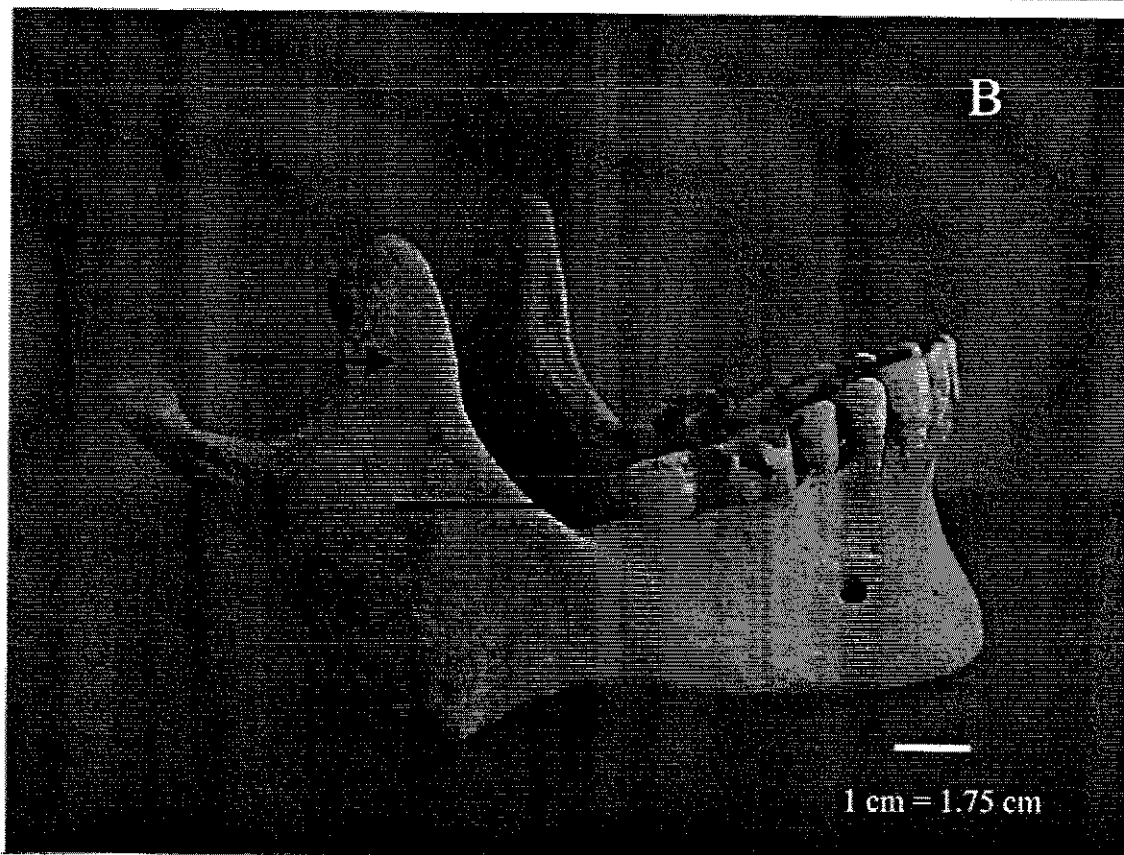
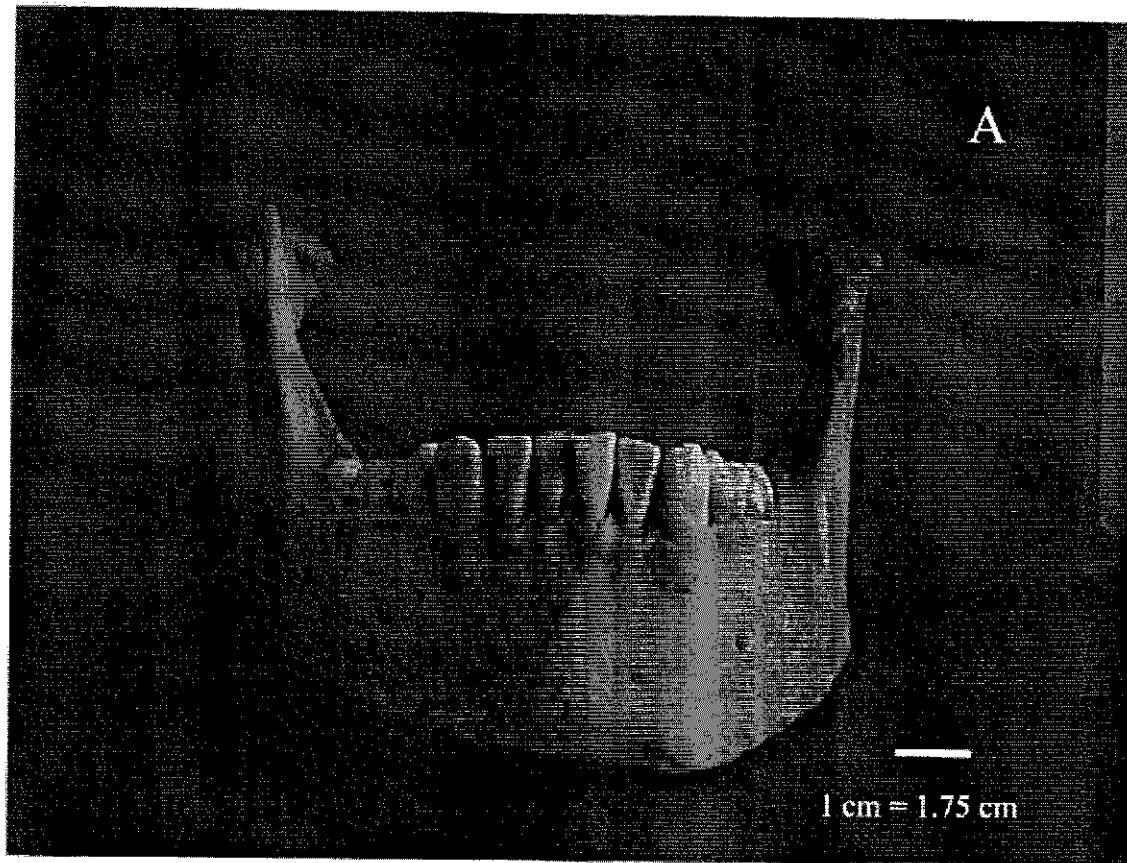
Se emplearon de 10 a 14 mg por muestra para cada una de las estructuras estudiadas. La muestra se coloca entre dos ventanas haciendo un "emparedado" con una gota de medio de suspensión, distribuyéndola de manera uniforme con un ligero movimiento circular, de forma que sea ligeramente translúcida y sin grumos ni burbujas, después se obtuvo el espectro de infrarrojo en un aparato Nicolet modelo MAGNA IR 750 serie II. Este equipo, también se encuentra en el CIMAV, Chihuahua, México.

CAPÍTULO V .- RESULTADOS

En la figura V.1 observamos la fotografía de la mandíbula humana, objeto de partida para este estudio, la cual fue caracterizada antropológicamente como perteneciente a un individuo de sexo femenino de entre 16 y 22 años de edad; vista tanto de frente (A) y de perfil (B) en su integridad anatómica. Las flechas indican las tres estructuras que se analizaron en este trabajo: cóndilo, rama ascendente anterior y alvéolo del tercer molar. Esta es la pieza que se procesó de acuerdo al procedimiento experimental comentado en el Capítulo IV y de donde se obtuvieron las muestras. Estas estructuras se muestran también en la figura V.2, vistas desde arriba en (A), en donde se puede apreciar la cavidad alveolar que se procesó posteriormente para su estudio, y desde la parte posterior (B).

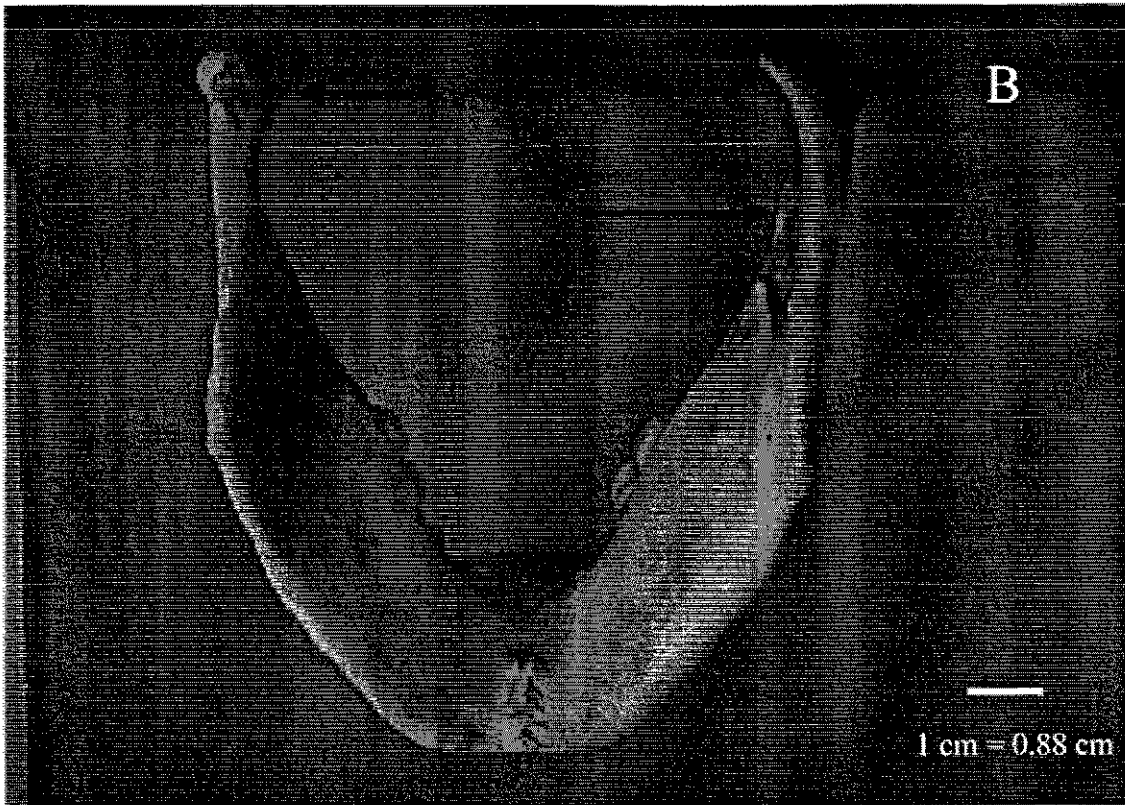
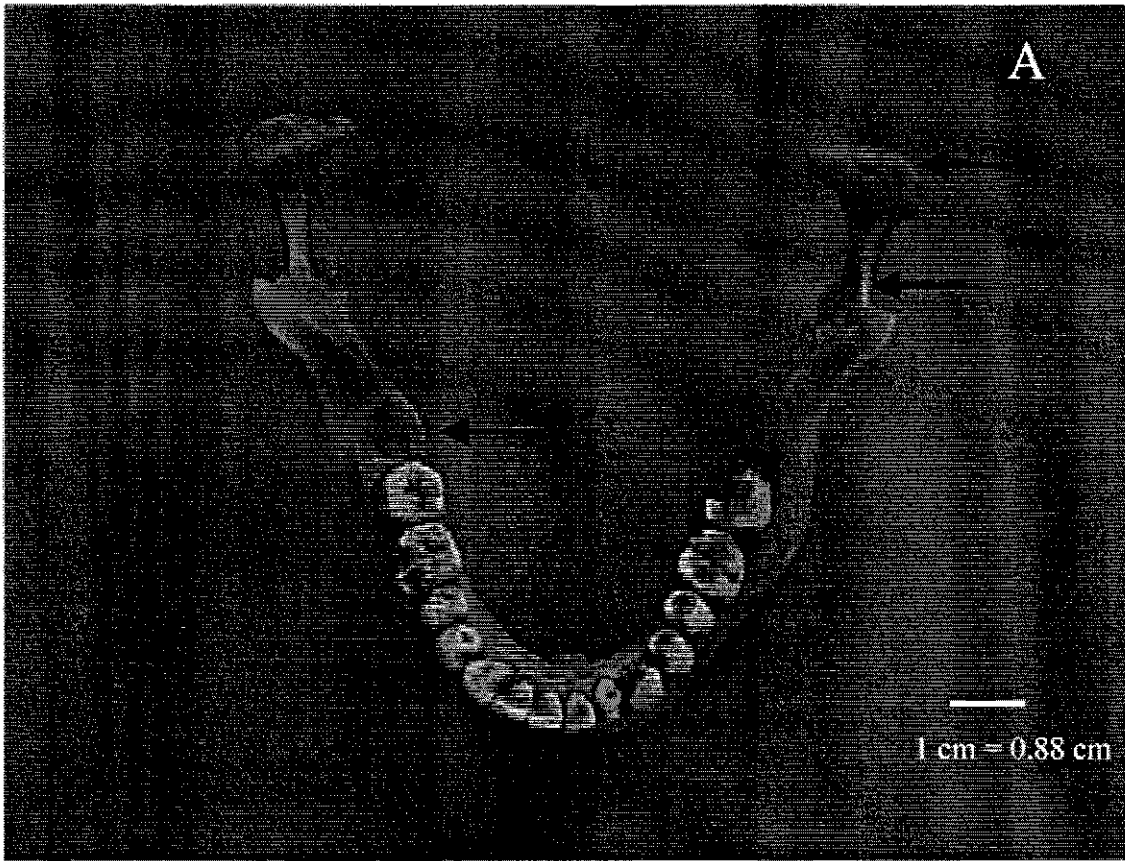
En la figura V.3 observamos una radiografía panorámica de la mandíbula donde se aprecia la inserción de los dientes, los cóndilos y la rama ascendente anterior, aunque la estructura se muestra deformada por la técnica. Aquí también se indica con flechas las estructuras de interés para este trabajo. Cabe mencionar que en estas figuras se observa que el espécimen tuvo en vida una dentadura sana y no muestra lesiones en el hueso.

En la figura V.4 se muestra una radiografía periapical donde vemos la inserción del tercer molar en el alvéolo antes de ser extraído para el estudio. Se señala con una flecha el tramado del hueso trabecular o entretejido que rodea a la pieza dental y que conforma en esta zona a la mandíbula humana.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura V.1 Mandíbula humana utilizada para la obtención de las muestras de estudio de este trabajo de tesis. A) vista de frente, B) vista de perfil. Las flechas indican el cóndilo, la rama ascendente y el alveólo.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura V. 2. Mandíbula humana utilizada para la obtención de las muestras. A) vista por arriba, B) vista por abajo. Las flechas indican el cóndilo, la rama ascendente y el alveólo



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura V. 3 Radiografía panorámica de mandíbula humana utilizada para la obtención de las muestras de este estudio en este trabajo de tesis. Las flechas indican el condilo, la rama ascendente y el alveolo. A pesar de la deformación que se muestra por la técnica se puede observar que el individuo tenía una estructura sana ya que no se muestran lesiones de hueso.

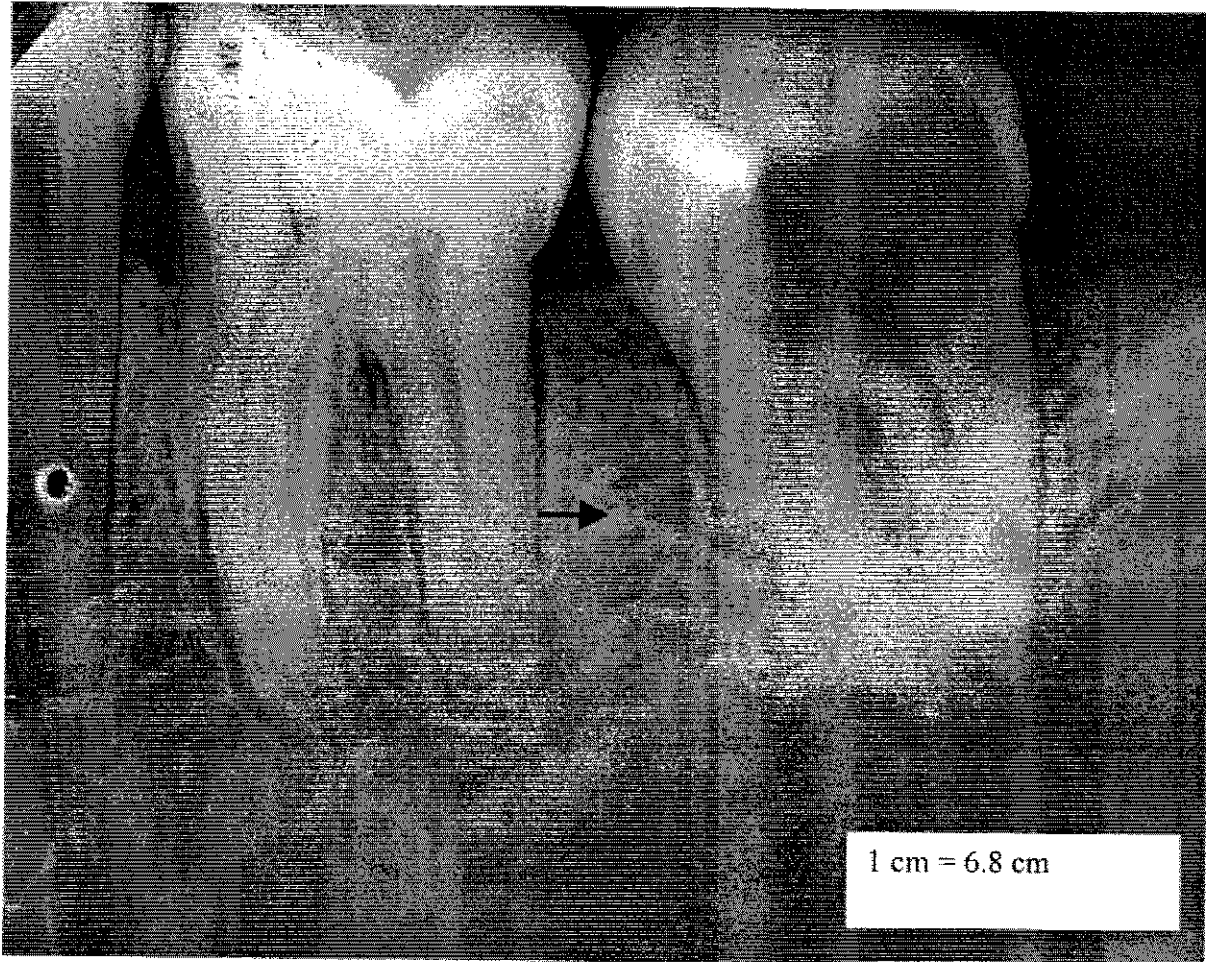


Figura V.4. Radiografía periapical tercer molar. La flecha indica el hueso trabecular que rodea a las piezas dentales. Se puede apreciar la inserción del tercer molar en el hueso alveolar antes de ser éste extraído para el estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Microscopía óptica.

Después del corte de la mandíbula, las muestras fueron procesadas de acuerdo al método de preparación de muestras comentado en la sección anterior. En la figura V.5 se observa por microscopía óptica de campo oscuro al hueso alveolar antes de ser sometido a tratamiento térmico. En (A) se indica el paso de un posible paquete vasculo-nervioso, hueso laminar y un conducto de Havers. Lo mismo se observa en (B), pero con mayor detalle ya que se trata de una imagen de estos conductos a mayor amplificación. En (C) podemos apreciar lámina cribiforme también a mayor aumento, y una serie de perforaciones o poros correspondientes al paso de vasos sanguíneos que irrigaban la zona (se indica uno de estos con una flecha). Lo importante de esta figura es que presenta las estructuras que conforman el hueso, y que se han presentado esquemáticamente en la figura 1.2, antes de cualquier tratamiento térmico.

Microscopía electrónica de barrido.

Para una mejor descripción de las estructuras morfológicas de los componentes de la mandíbula, la muestra se observó por MEB, ya que este es un equipo con mayor resolución que el microscopio óptico. En la Figura V.6 se observa el cóndilo en microscopía electrónica de barrido, sin pulido previo y sin ningún otro tratamiento. Se observa un arreglo y orientación muy definidos de láminas empaquetadas paralelas entre sí correspondientes a columnas de colágena asociadas a la lámina del hueso. También se puede observar la presencia de material amorfo, residuo de, posiblemente, la colágena que forma el hueso.

En la figura V.7 observamos una microfotografía de MEB de la rama ascendente obtenida con la misma técnica que la de la figura V. 6. En esta figura se observan dos estructuras paralelas que pueden corresponder a dos láminas asociadas con las partes de material orgánico amorfo indicadas por flechas.

La importancia de las figuras V.6 y V.7 es que nos indican la disposición del material orgánico embebido en la estructura del hueso. Seguramente en el caso de las muestras analizadas se trata de entramados de fibras de colágena.

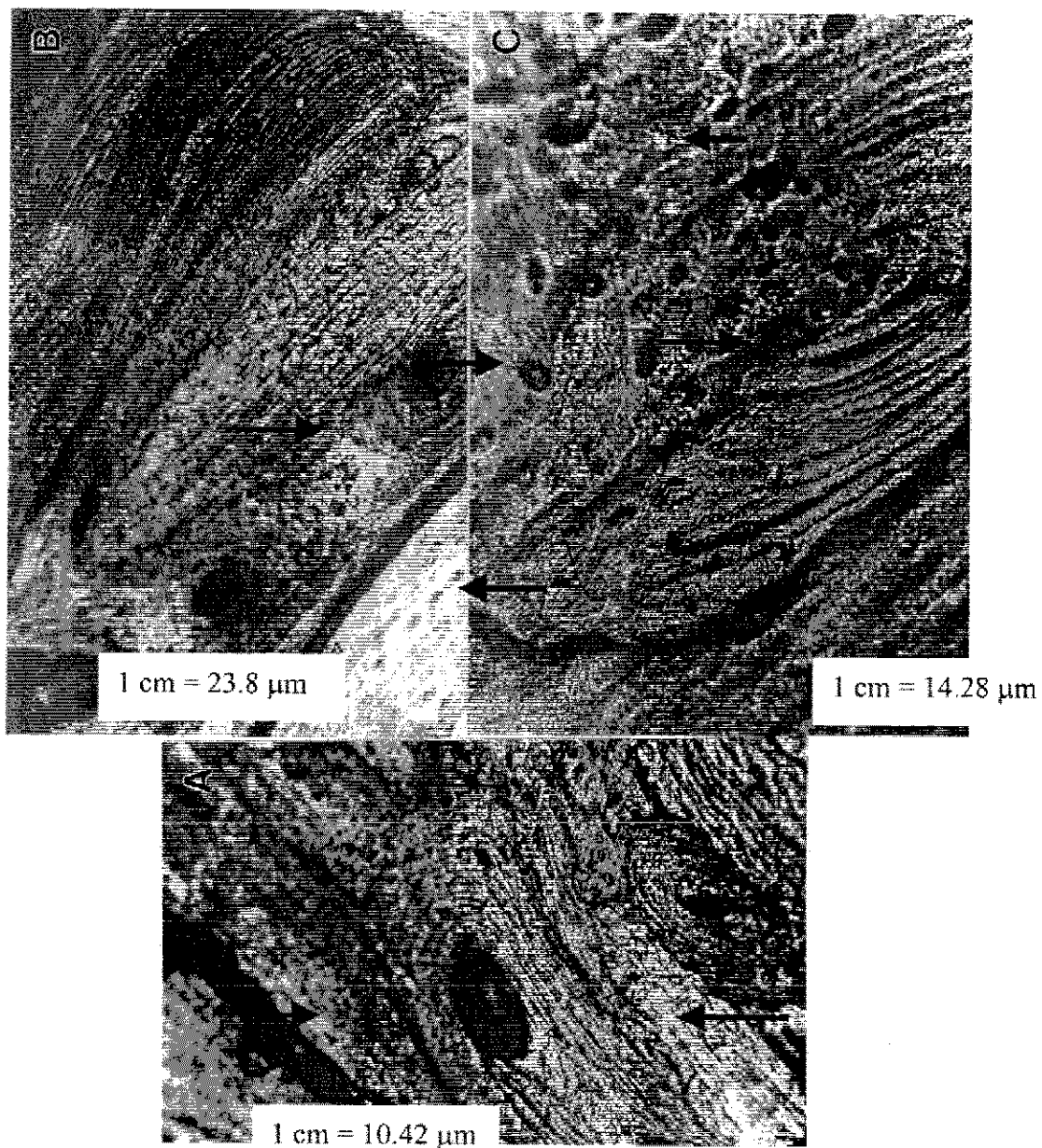


Figura V. 5. Imágenes de microscopía óptica de campo oscuro a diferentes ampliaciones del hueso alveolar antes del tratamiento térmico. Las flechas indican en A) un posible paso de paquete vasculo-nervioso, hueso laminar y conducto de Havers, en B) se observa lo mismo pero con mayor detalle por la ampliación; en C) se aprecia lámina cribiforme, las flechas indican el paso de vasos sanguíneos.



Figura V.6. Imagen de MEB de cóndilo. Obsérvese la estructura en haces que presenta y la presencia de material orgánico amorfo marcado por flecha.

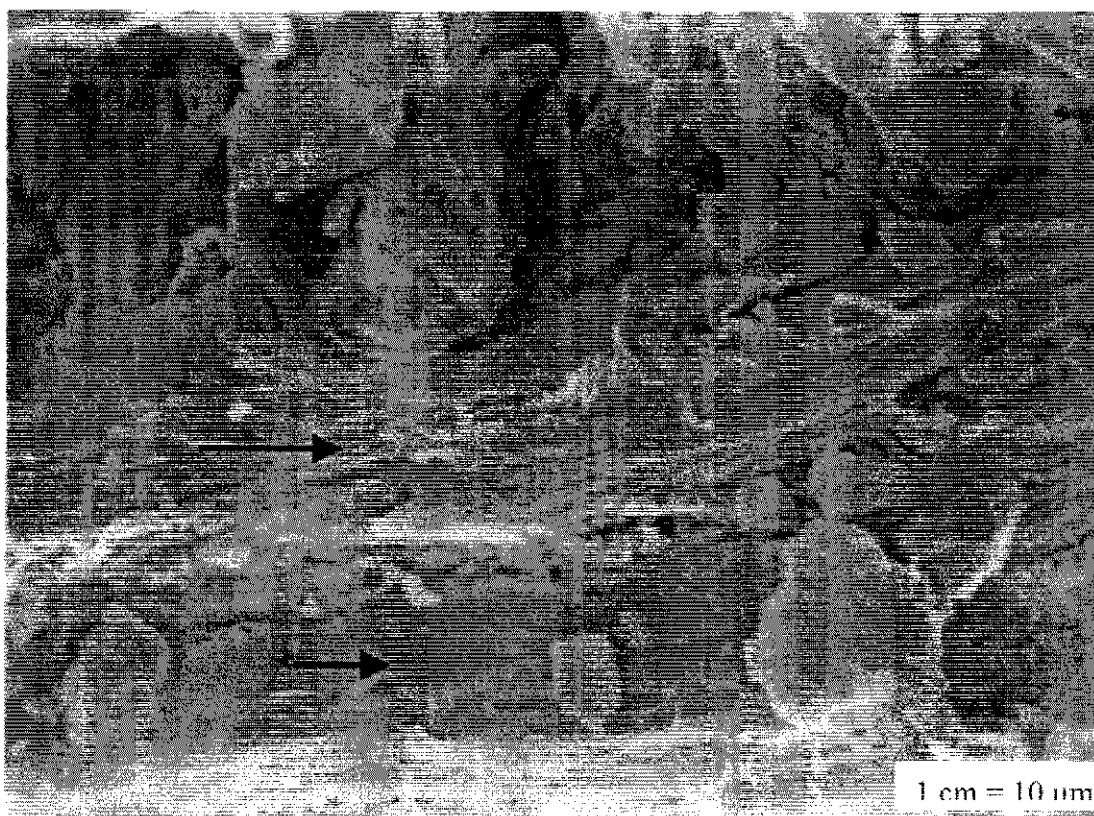


Figura V.7. Imagen de MEB de rama ascendente obsérvese la gran cantidad de material amorfo, lo que no permite ver con definición la estructura, aunque se aprecia la presencia de placas (indicadas por flecha)

Análisis químico por EDS.

Es importante destacar la utilidad que tiene un analizador de Rayos X característicos en un equipo de MEB. Esto nos permite conocer la composición química de la muestra bajo análisis.

En esta figura V.8 vemos el análisis químico del alvéolo obtenido en un microscopio JEOL JSM-5800 LV con un dispositivo integrado EDAX-DX PRIME.

En esta figura se observa un espectro representativo de los resultados obtenidos en las tres estructuras. En la figura se muestra que los elementos calcio, fósforo y oxígeno son mayoritarios lo cual indica que el componente mayoritario en el hueso es hidroxiapatita (la HA está formada por Ca, P, O, e H).

En este caso el hidrogeno no es detectable por medio de esta técnica. Sin embargo, la técnica EDS nos muestra claramente que esta HA esta contaminada o *contiene otros tipos de elementos como son el Mg, el Na, y Cl*, los que por otra parte se sabe están presentes en el hueso para su mantenimiento y funcionamiento, tal y como se comentó y discutió en el capítulo II.

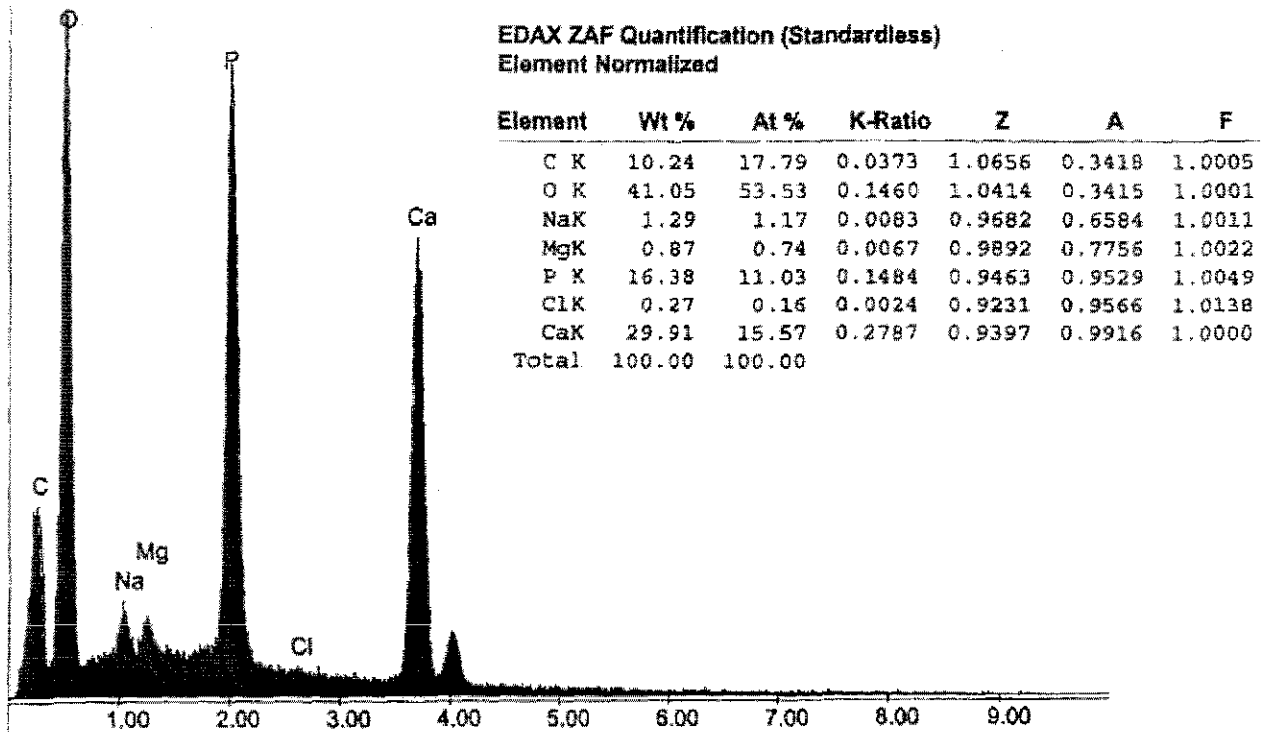


Figura V.8. Espectro de EDS mostrando el análisis químico del alveólo. Este espectro es característico de todos los obtenidos en la mandíbula por medio de esta técnica. Nótese que además de los elementos de la HA, se observan señales de C, Mg, Na y Cl. En la tabla se presentan los porcentajes, tanto en peso como atómico, de cada uno de los elementos mostrados en el espectro. Las columnas indicadas por las letras Z, A y F son los factores de corrección por número atómico (Z), absorción de rayos x (A) y fluorescencia (F) para cada porcentaje. La columna K ratio es el factor de corrección para relacionar la altura de cada pico con la concentración del elemento correspondiente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La tabla V.1 que se encuentra inserta en la figura V.8 nos indica la concentración de los elementos tanto en porcentaje atómico como de peso (columnas At% y wt%) así como el coeficiente K de correlación entre la intensidad y la concentración que se calcula, este es un valor casi constante para los diferentes elementos. En el caso de las columnas indicadas por Z, A y F se trata de los parámetros de corrección de los datos por número atómico (Z), por absorción (A) y por fluorescencia (F) respectivamente. En este caso lo que nos interesa analizar son las columnas correspondientes tanto al porcentaje de peso atómico como de concentración de átomos respectivamente. La tabla V. 1 presenta los porcentajes de los elementos obtenidos en cada una de las muestras.

Lo que se observa en la tabla V. 1 es una concentración diferente de la relación Ca/P que se obtuvo (Tabla V.2) para cada una de las estructuras de la mandíbula que se estudio. Por ejemplo en el caso del cóndilo tenemos una relación Ca/P de 1.62, en tanto que en la rama ascendente la relación es de 1.41, y en el alvéolo es de 2.03. Estos valores de la relación Ca/P son importantes porque nos permiten apreciar cuál es la diferencia entre lo que vendría a ser la HA pura sintética, en la cual la relación Ca/P es de 1.67, con respecto a los valores que obtuvimos en las diferentes partes de la mandíbula.

En la tabla V.2 podemos observar tanto las concentraciones en porcentaje atómico como de porcentaje en peso para cada uno de los elementos que fueron detectados. La relación de composición que se presenta se puede comparar con la tabla II.1 de composición reportada para el caso del hueso, el esmalte y la dentina que se presenta en el capítulo II de ESTRUCTURA DE LA HIDROXIAPATITA de este trabajo de tesis. Claramente se puede observar que la relación Ca/P reportada para hueso es de 2.29 en tanto que para la dentina es de 2.08 y para el esmalte es de 2.06. Esto nos da una fuerte indicación del tipo y del porcentaje de material de sustitución que se presenta en cada una de las estructuras analizadas.

Tabla V.2. Resultados del análisis por EDS de las diferentes partes de la mandíbula estudiada. Se presenta los porcentajes en peso (wt %) y en atómico (at %) de los elementos observados en cada caso (figura V.8) y su desviación standard (DE). La razón Ca /P fue obtenida a partir de los porcentajes at % de Ca y P presentados.

Cóndilo Ca/P= 1.62		
Elemento	Wt% (± DE)	At% (±DE)
Carbono	16.89 (10.86)	26.89 (14.88)
Oxígeno	35 (11.11)	49.1 (5.78)
Sodio	1.03 (0.18)	1.28 (0.88)
Magnesio	0.44 (0.21)	0.37 (0.18)
Fósforo	12.01 (5.45)	8.36 (3.73)
Calcio	26.08 (6.12)	13.58 (4.97)
Cloro	0.27	0.16
Azufre	0.32 (0.09)	0.34 (0.23)
Rama Asc. Ca/P= 1.41		
Carbono	45.36 (30.99)	55.58 (28.38)
Oxígeno	32.89 (35.67)	10.98 (14.91)
Sodio	0.52 (0.16)	0.37 (0.19)
Fósforo	6.88 (7.15)	3.95 (4.32)
Calcio	12.63 (14.1)	5.58 (6.61)
Magnesio	0.37 (0.27)	0.04 (0.04)
Silicio	0.74 (0.63)	0.38 (0.26)
Alveolo Ca/P= 2.03		
Carbono	30.67 (1.97)	39.86 (2.39)
Oxígeno	36.82 (1.3)	39.86 (1.81)
Sodio	0.84 (0.47)	0.63 (0.37)
Magnesio	0.41 (0.01)	0.29 (0.07)
Fósforo	11.21 (0.82)	4.2 (3.6)
Calcio	19.77 (0.14)	8.55 (0.02)

Tratamiento térmico.

Después de terminados el estudio de EDS, se sometió a calentamiento el hueso alveolar a temperaturas de 100, 300, 500, 700 y 800°C, como se describió en el capítulo de procedimiento experimental, para registrar los cambios morfológicos a nivel de microscopía óptica y de MEB. En la figura V. 9 observamos 4 imágenes de microscopía óptica del hueso alveolar después de haberlo sometido a diferentes temperaturas.

Aunque no se pudo apreciar claramente en las fotografías, durante la observación al microscopio óptico se registraron cambios en la coloración del hueso que fueron desde el color crema, que se mantuvo hasta los 100°C, pasando por un ligero tono grafito de los 300 a 500°C, en tanto que a 700 y 800°C las muestras se tornaron de color blanco. En las imágenes se aprecia que a 100°C existe hueso laminar y canales de Havers. A 300°C observamos fracturas, y el mencionado cambio de coloración se hace más evidente hacia los 500°C en donde notamos la desorganización de la estructura. En tanto a 800°C prácticamente el hueso lo observamos liso y sólo mostrando conductos que probablemente representan el paso de vasos sanguíneos. En general la descripción más adecuada sería la del progresivo alisamiento del hueso así como los cambios de coloración que nos indican la pérdida progresiva de materia orgánica.

En la figura V.10 observamos por MEB cuatro imágenes de hueso alveolar tratadas a 100°C. En (A) parece que el material ha sufrido una fractura lo que nos permite observar el material orgánico, se puede apreciar claramente a mayor aumento en (a) puentes de unión de fibras de colágena, que se abren ante el tratamiento térmico. En B y b se observa el mismo efecto.

En la figura V.11 se muestran cuatro imágenes del mismo hueso pero tratadas a 500°C. En este caso el cambio es realmente drástico comparado con la figura anterior ya que no observamos ya fibras de material orgánico sino solamente el "esqueleto" donde estas fibras se albergaban. Aparentemente la parte orgánica va

aflojando hacia las fracturas que sufre el hueso por efecto del calentamiento, mostrando una morfología sofisticada y dejando al hueso sin el sostén de la colágena.

En la figura V.12 se muestra el mismo hueso a 700°C. Como ya se había comentado, los canales de Havers pierden definición al tiempo que la muestra sufre de deformación debido a la pérdida de materia orgánica. En A) tenemos esta visión panorámica en microscopía óptica en tanto que en B y C) las imágenes de MEB muestran ahondamientos en los canales y no se observan restos de materia orgánica, confirmándose a esta temperatura la pérdida de colágena que es la columna de soporte de los huesos.

En la figura V.13 a 800°C se puede apreciar en A) el alisamiento de la superficie del hueso aunado a la pérdida de definición de los canales de Havers con fracturas que en algunos sitios son más profundas que otras. En B y C) las microfotografías muestran al hueso extremadamente poroso con una gran cantidad de fracturas y totalmente desprovisto de materia orgánica. Además, como ya se mencionó, a la observación de esta muestra en el microscopio óptico su color es blanco.

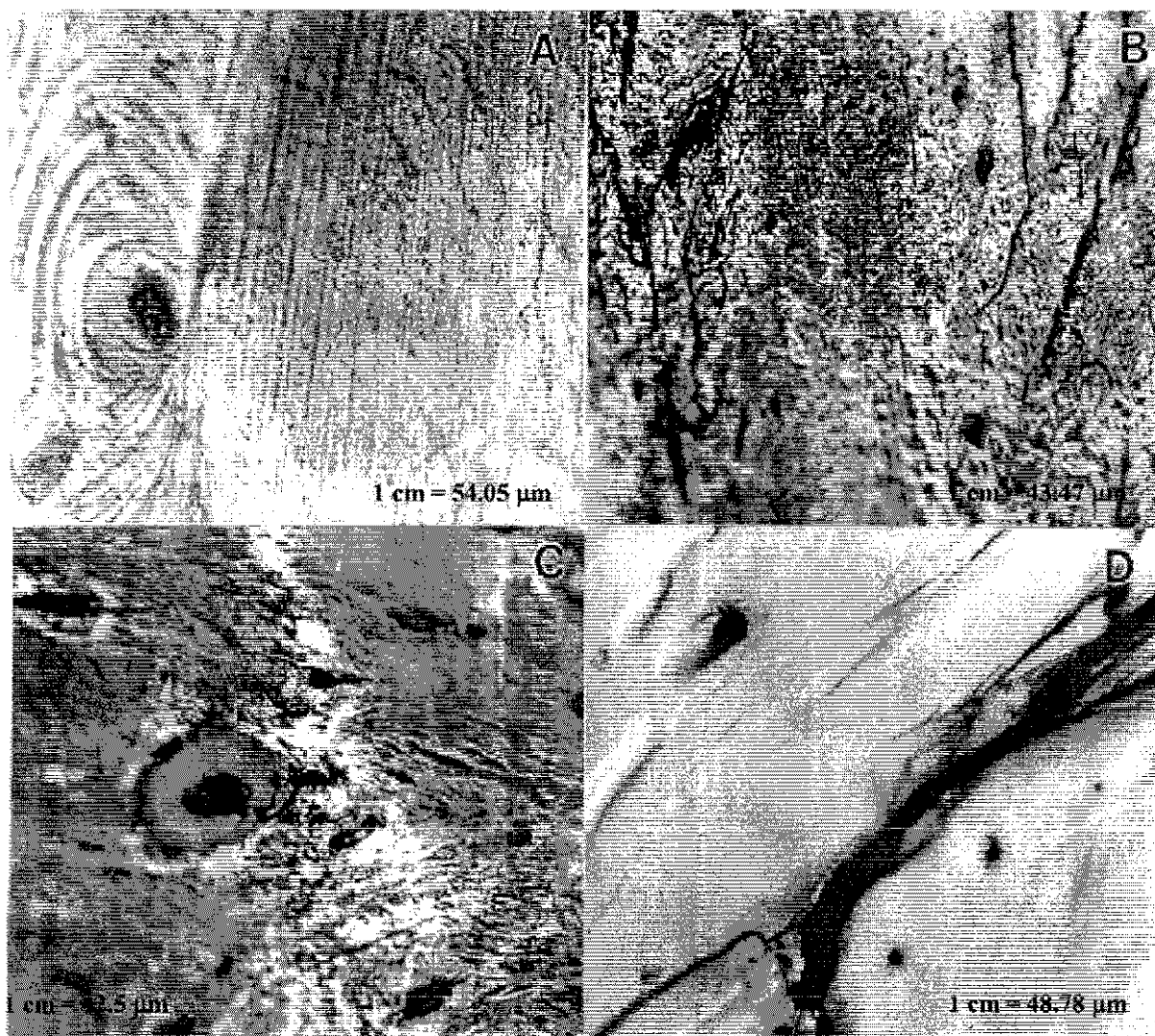


Figura V. 9. Imágenes de microscopía óptica de campo oscuro del hueso alveolar al ser sometido a temperaturas de: A) 100°C, B) 300°C, C) 700°C, D) 800°C. Nótese los cambios tan drásticos que se presentan en D).

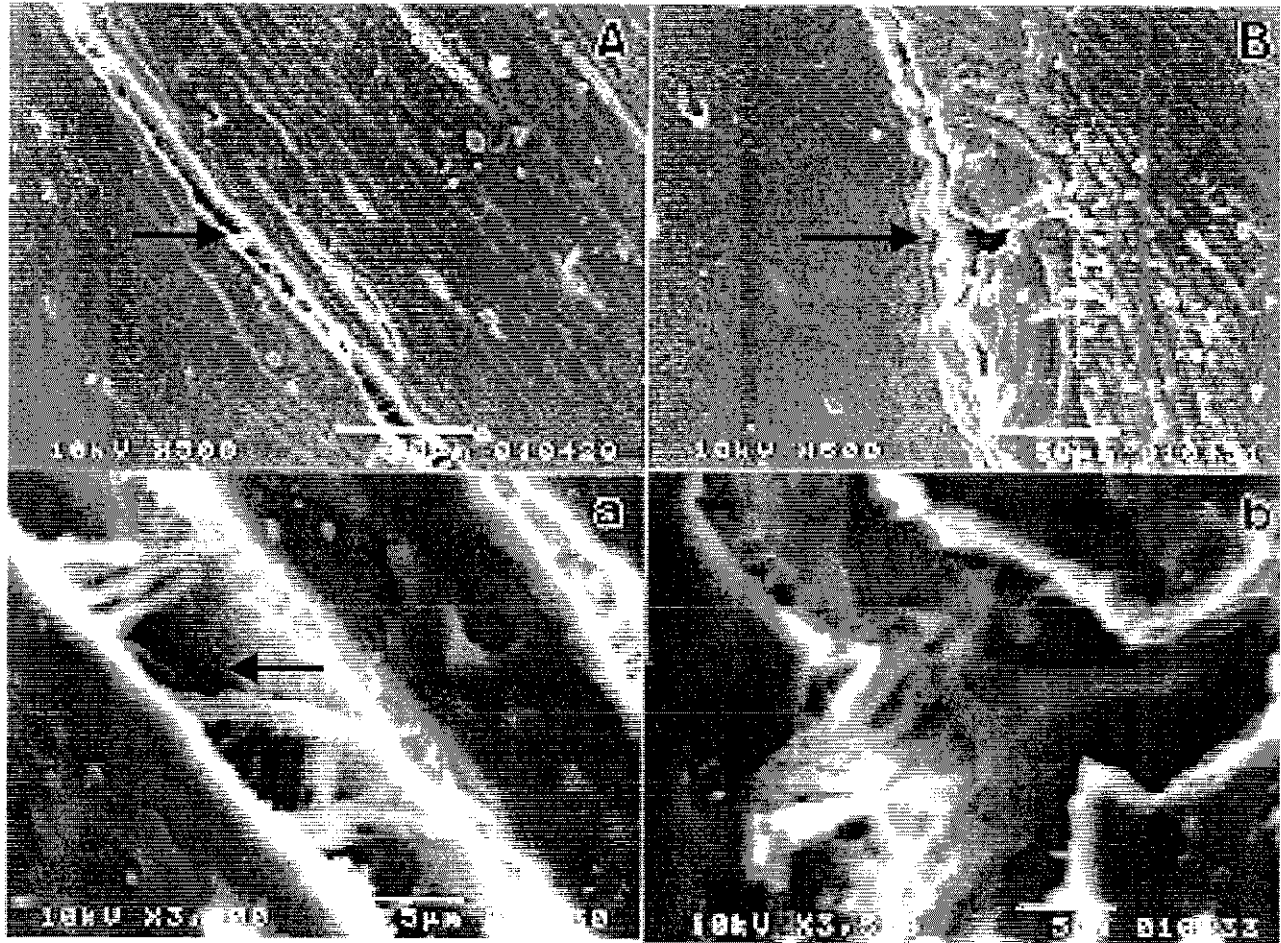


Figura V.10. Imágenes de MEB del hueso alveolar después de calentarlo durante una hora a 100°C .

- a) es una ampliación de la imagen mostrada en (A) y
- b) es una ampliación de (B). Nótese la existencia de material orgánico dentro de las fracturas. Las flechas indican las zonas que fueron amplificadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

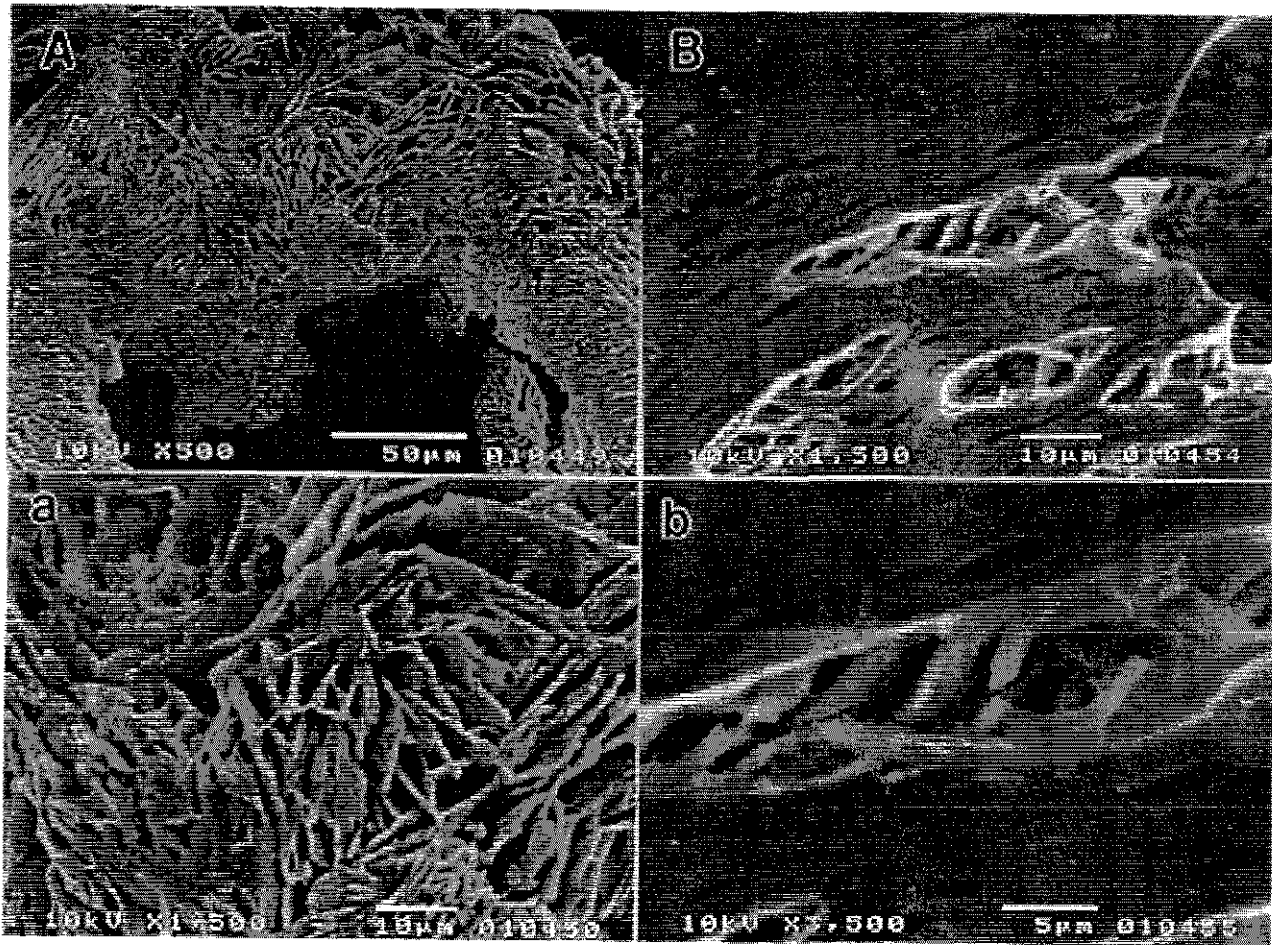


Figura V.11. Imágenes de MEB del hueso alveolar después de calentarlo a 500°C durante una hora. (a) es una ampliación de la imagen mostrada en (A) y (b) es una ampliación de (B). Nótese los cambios producidos por el calentamiento al comparar esta imagen con la mostrada en la figura V.11.

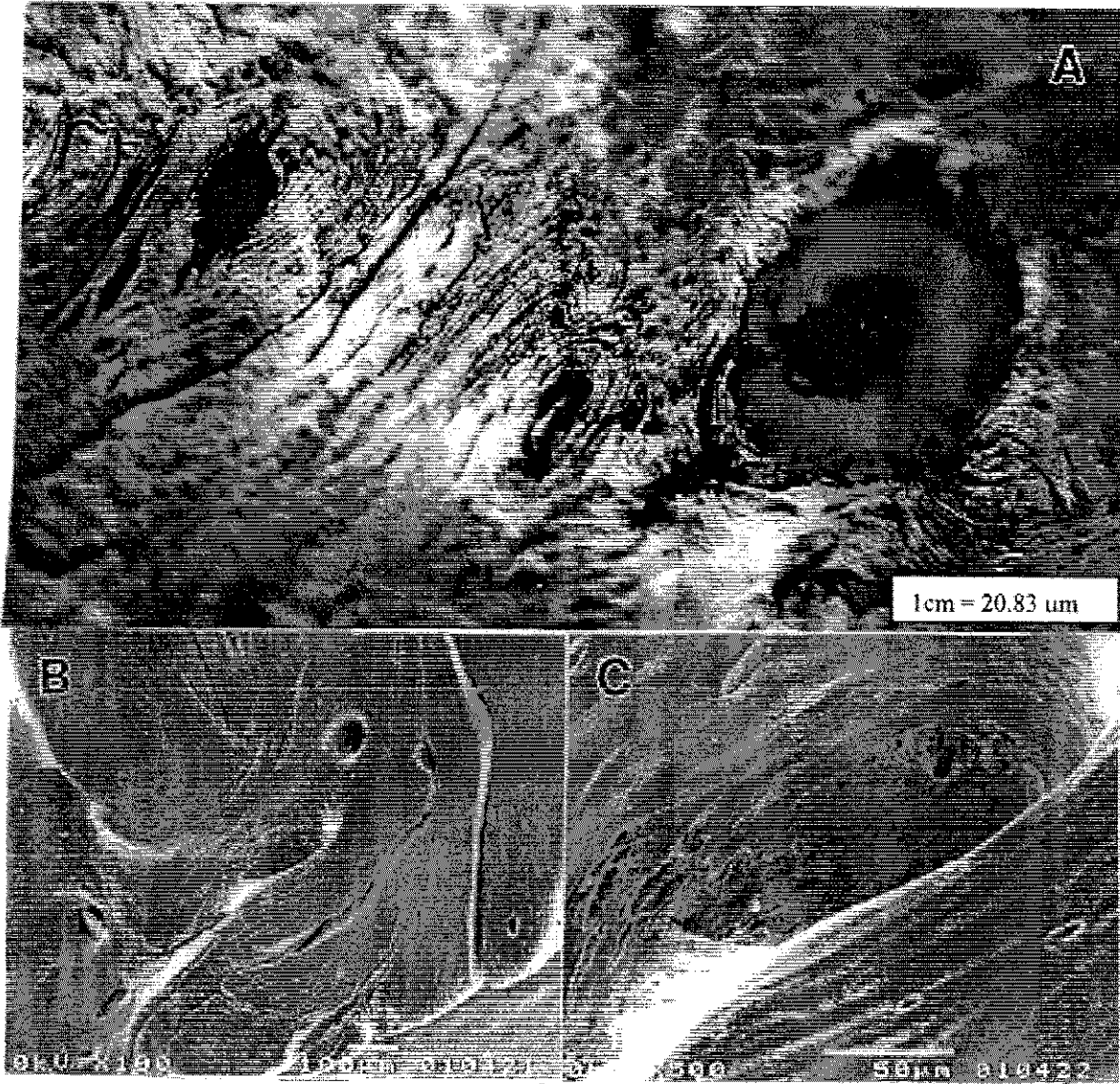


Figura V. 12. Imágenes del hueso alveolar después de calentarlo a 700° C durante una hora en: A) microscopía óptica de campo oscuro, B) y C) imágenes de MEB. Nótese en A) la presencia de fracturas y la deformación de la estructura debido al calentamiento, en B) y C) ya no se observan restos de materia orgánica.

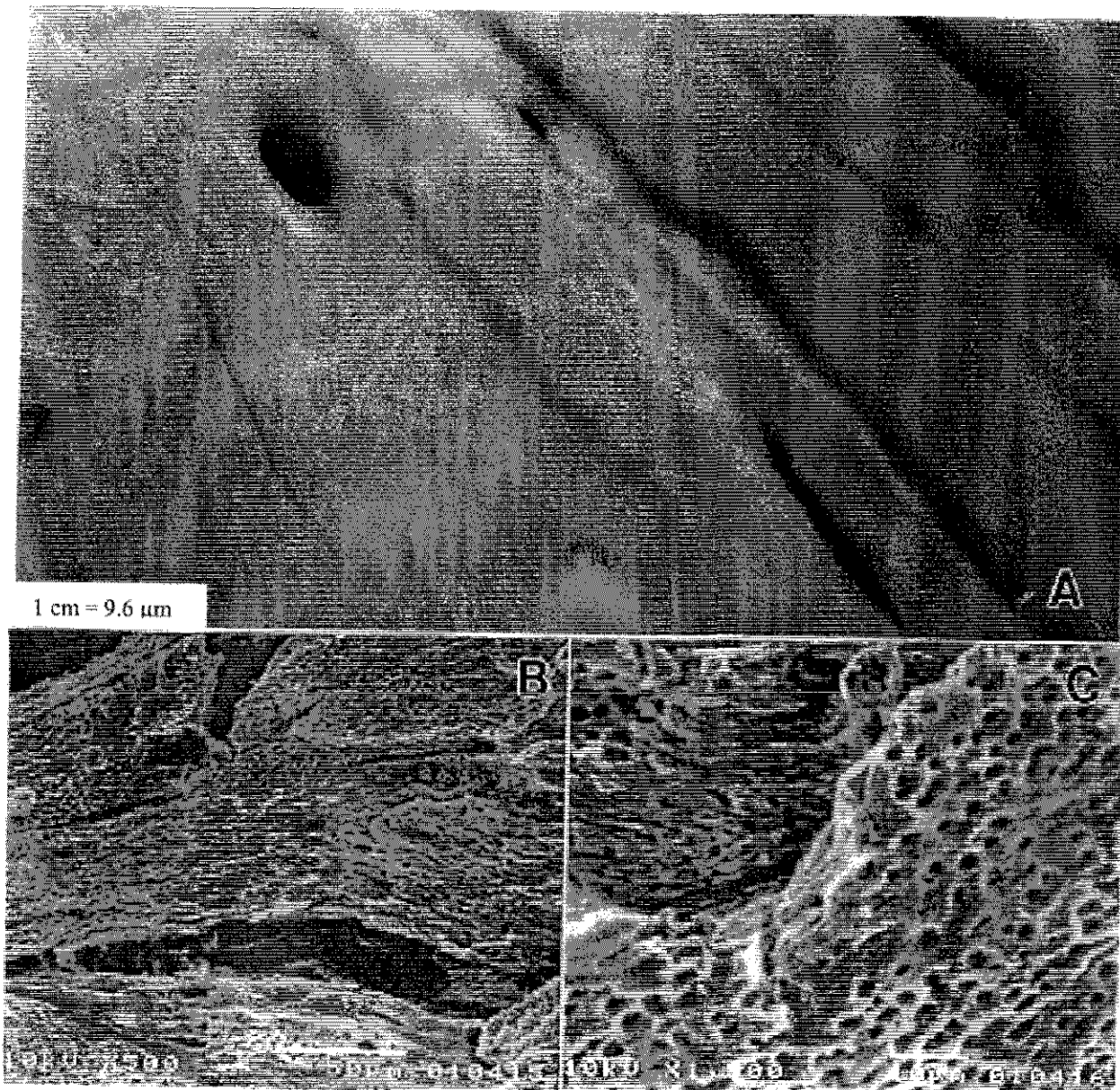


Figura V.13. Imágenes del hueso alveolar después de ser sometido a la temperatura de 800 °C durante una hora. A) microscopía óptica de campo oscuro, B) y C) MEB. Nótese lo liso que se presenta la superficie en A) y lo poroso que se presenta al ser observado en MEB.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis por difracción de Rayos X.

Los estudios de calentamiento se siguieron a nivel atómico por difracción de Rayos X en las tres estructuras mandibulares. La difracción de Rayos X muestra que en los tres casos se trata de una hidroxiapatita impura. A medida que se eleva la temperatura podemos observar un patrón general de cambio de intensidad en los picos (altura) o bien un ligero desplazamiento en su posición lo que nos habla de como se va modificando el material conforme aumenta la temperatura. Estos cambios los podemos asociar con la pérdida de material orgánico, como lo demuestra el experimento anterior en el hueso alveolar a nivel micrométrico.

En la figura V.14 se presenta un patrón de difracción normal (difractograma) a temperatura ambiente (25°C) el cual a la indexación se correlacionó claramente con el de la hidroxiapatita por las tablas de JCPD. Debe hacerse notar que el pico más intenso y más ancho es producto de la señal proveniente del portamuestras del aparato. Cuando esta muestra fue sometida a tratamiento térmico no se indica un cambio o transformación de fase, es decir la hidroxiapatita como material se mantiene. Esto lo podemos visualizar claramente en la figura V.15 en la que se muestran dos espectros: uno a 300 y otro a 700°C. En este experimento observamos que el difractograma muestra los picos de HA que se identificaron en la figura V.15, pero la altura varía con respecto a la temperatura. En el pico correspondiente a (221), sí lo comparamos entre A y B, vemos un cambio de intensidad, el que es más notable aún en el pico (222).

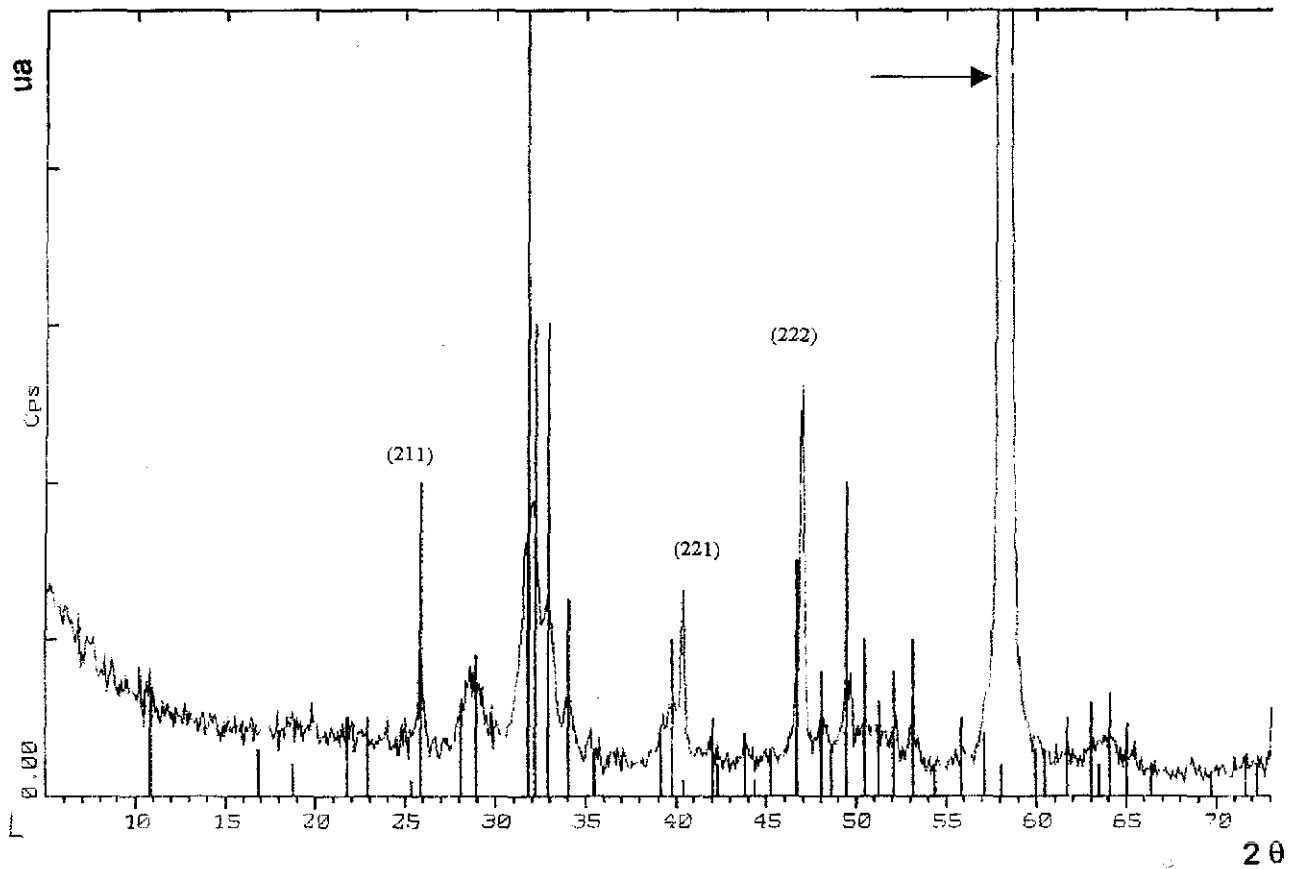


Figura V.14 Patrón de difracción de rayos X a temperatura ambiente del polvo proveniente del cóndilo. La indexación de los picos de este difractograma indica que se trata de los planos de la celda hexagonal de la HA. El pico indicado por la flecha proviene del material del portamuestras del equipo de difracción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

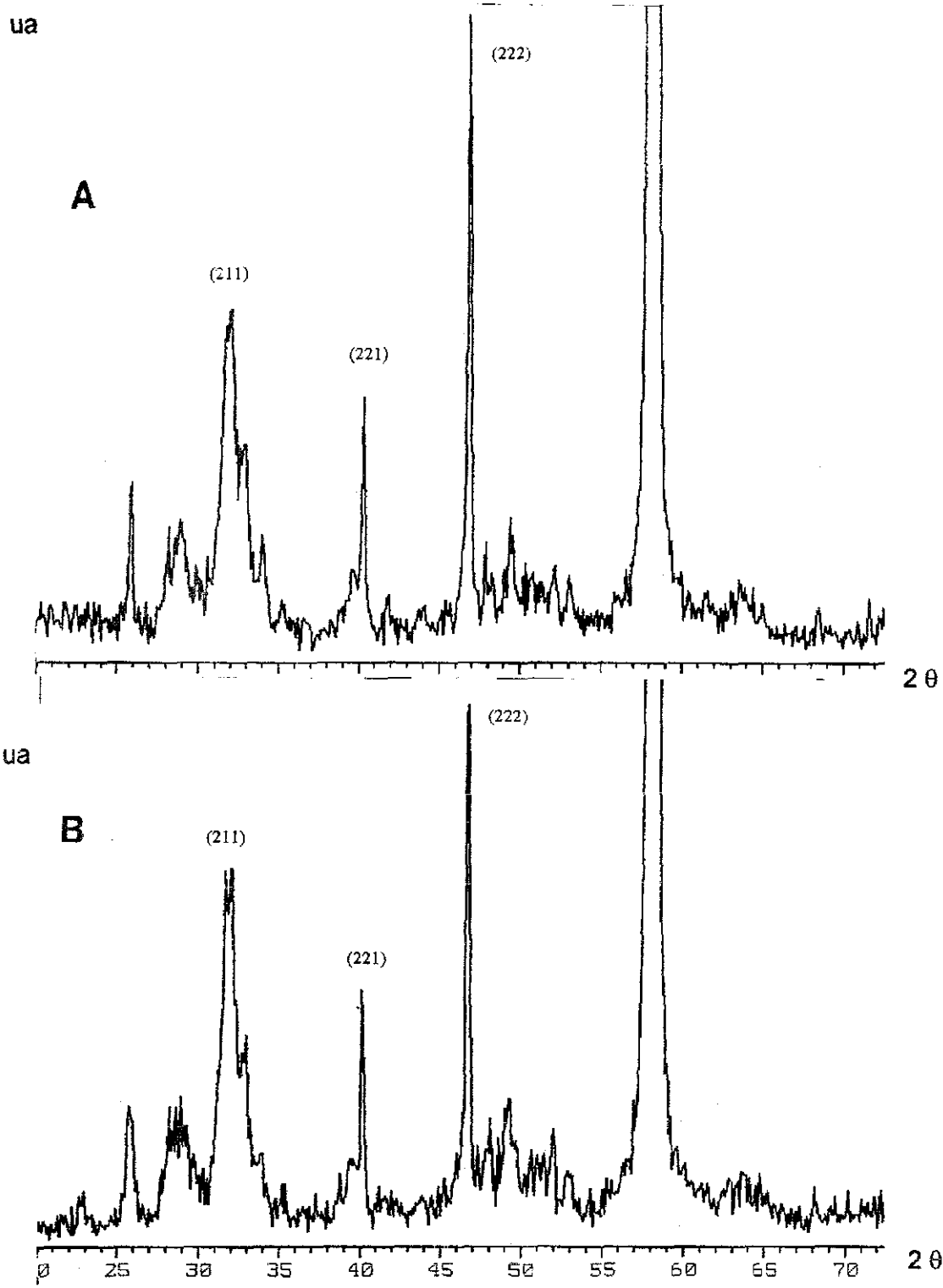


Figura V.15 Difractogramas de rayos X de polvo proveniente del cóndilo a diferente temperatura. (A) 300° C, (B) 700° C. Nótese que no existe cambio alguno en la posición de los picos, sólo en las alturas. Esto indica que no hay cambio de estructura, sólo un reacomodo de los planos de la HA.

Al hacer el estudio de la muestra a través de todo el rango de temperaturas (25 a 800°C) obtuvimos una modificación en las intensidades, lo que se presenta en la tabla V.3 que muestra la variación de cada uno de los picos en correlación con la temperatura. Con el objeto de hacer más claros estos cambios se graficaron los picos correspondientes a los planos (211) (300) y (112) a diferentes temperaturas para las tres estructuras de la mandíbula (figura V.16).

En la figura V.16 A observamos que el pico (300) casi se mantiene constante a diferencia del pico (112) cuyo descenso en intensidad es bastante notable. Lo mismo se observa en V.16 B pero de manera más clara. Vemos que todos los picos disminuyen hasta una intensidad de 20 u.a. y luego tienden a permanecer más o menos constantes.

La figura V.16 C presenta la gráfica con el mismo patrón de comportamiento ya descrito para los dos casos anteriores.

Estos resultados se interpretan en el sentido de que lo que tenemos es un reacomodo de planos, de tal manera que la hidroxiapatita no se modifica, pero si tenemos un reacomodo estructural del ordenamiento del cristal. Lo que también se interpreta como una muestra de la estabilidad de la HA del hueso en este intervalo de temperatura.

Este reacomodo de planos lo podemos correlacionar con la pérdida progresiva de material orgánico hasta que llega el momento en que sólo contamos con la parte inorgánica del hueso, lo que se apoya a nivel micrométrico con los cambios en la morfología ya descrito, además de lo reportado en la bibliografía.

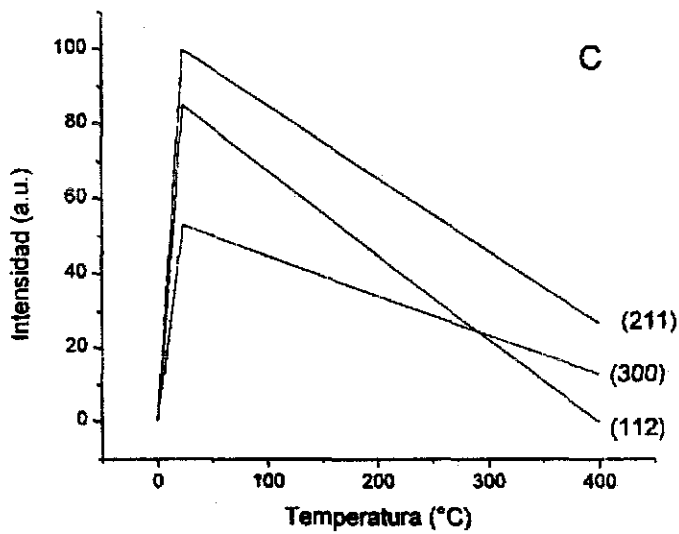
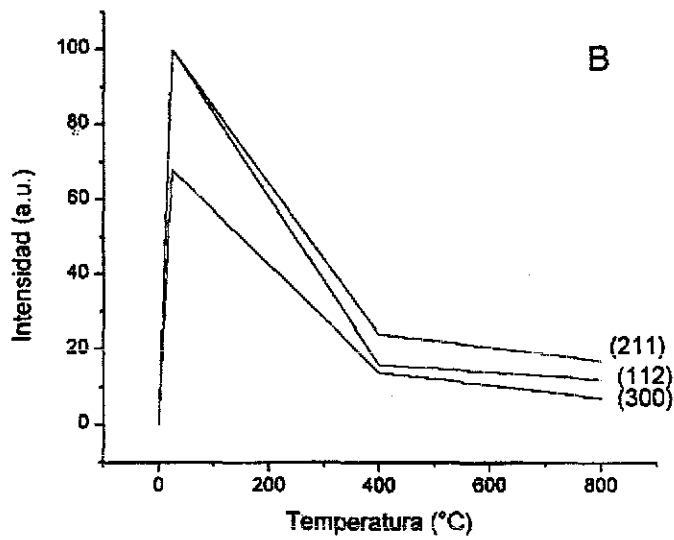
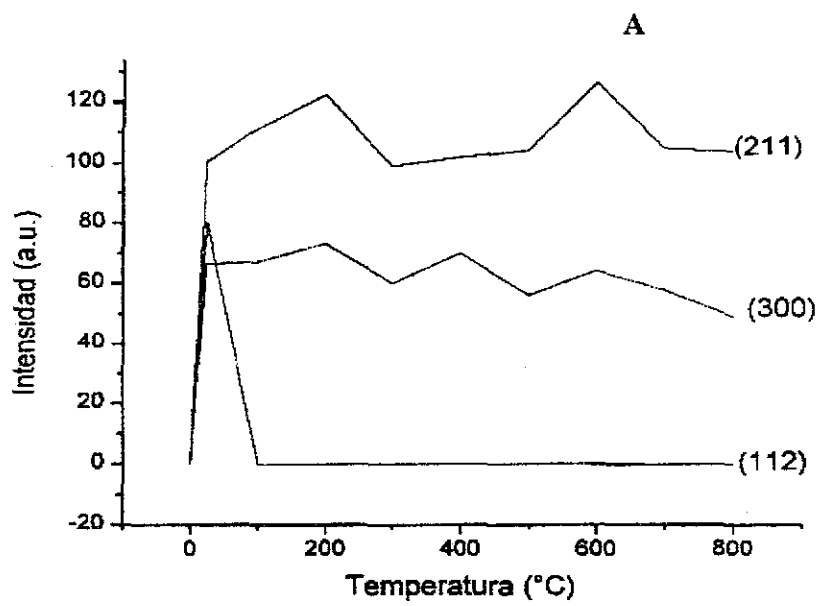


Figura V.16 Representación gráfica de los datos presentados en la tabla V.3. Nótese los cambios con relación a diferentes temperaturas por las alturas de los picos (211), (112) y (300). Para el cóndilo (A), rama ascendente (B), y alveólo (C).

Tabla V.2. Resultados del análisis por EDS de las diferentes partes de la mandíbula estudiada. Se presenta los porcentajes en peso (wt %) y en atómico (at %) de los elementos observados en cada caso (figura V.8) y su desviación standard (DE). La razón Ca /P fue obtenida a partir de los porcentajes at % de Ca y P presentados.

Cóndilo Ca/P= 1.62		
Elemento	Wt% (± DE)	At% (±DE)
Carbono	16.89 (10.86)	26.89 (14.88)
Oxígeno	35 (11.11)	49.1 (5.78)
Sodio	1.03 (0.18)	1.28 (0.88)
Magnesio	0.44 (0.21)	0.37 (0.18)
Fósforo	12.01 (5.45)	8.36 (3.73)
Calcio	26.08 (6.12)	13.58 (4.97)
Cloro	0.27	0.16
Azufre	0.32 (0.09)	0.34 (0.23)
Rama Asc. Ca/P= 1.41		
Carbono	45.36 (30.99)	55.58 (28.38)
Oxígeno	32.89 (35.67)	10.98 (14.91)
Sodio	0.52 (0.16)	0.37 (0.19)
Fósforo	6.88 (7.15)	3.95 (4.32)
Calcio	12.63 (14.1)	5.58 (6.61)
Magnesio	0.37 (0.27)	0.04 (0.04)
Silicio	0.74 (0.63)	0.38 (0.26)
Alveolo Ca/P= 2.03		
Carbono	30.67 (1.97)	39.86 (2.39)
Oxígeno	36.82 (1.3)	39.86 (1.81)
Sodio	0.84 (0.47)	0.63 (0.37)
Magnesio	0.41 (0.01)	0.29 (0.07)
Fósforo	11.21 (0.82)	4.2 (3.6)
Calcio	19.77 (0.14)	8.55 (0.02)

Análisis de DTA y TGA.

Siguiendo el estudio de los cambios en el material por el tratamiento térmico se procedió a hacer pruebas de DTA y TGA de manera simultánea, como se muestra en la figura V.17. En esta gráfica podemos apreciar 2 curvas correspondientes a cada uno de los experimentos realizados (DTA-TGA) en cóndilo (V.17A) En el análisis termogravimétrico la curva muestra la cantidad de materia que se está perdiendo durante el proceso de calentamiento correlacionada a su vez con el análisis micrométrico. En el intervalo correspondiente de 100 a 200°C podemos considerar que la pérdida de material es casi nula. Es decir, la pendiente que pasaría de una recta en este intervalo sería casi paralela al eje horizontal, en tanto que es de notarse que en el intervalo de 200 a 400°C la pérdida es la más importante del proceso lo que se demuestra por la pendiente de la misma donde se aprecia una caída abrupta, estabilizándose nuevamente entre los 400 y 600°C donde observamos un comportamiento con una pendiente menos importante, pero que sigue siendo de pérdida notable. Entre 500 y 600°C la pérdida de material sigue un comportamiento prácticamente igual que en el intervalo de 100 a 200°C. Otro punto que se puede apreciar en esta gráfica es el porcentaje de la pérdida de material el cual va desde el 94.29% hasta el 56.85 % lo que nos representa una pérdida del 37.44 %.

En la curva correspondiente al DTA las diferencias que notamos corresponden a la diferencia de temperatura que se genera entre dos muestras es decir entre el material de referencia y el hueso (alúmina y hueso respectivamente) en donde observamos nuevamente un máximo entre los 300 y 400°C que es justamente el intervalo donde la pérdida de materia es máxima. En el intervalo entre los 400 y 500°C observamos nuevamente que el material esta cediendo calor aunque de manera menos importante. Además este pico muestra que el proceso que se presenta en esta región es completamente exotérmico, es decir el material está cediendo calor en comparación con el resto del proceso. Por lo tanto, la

interpretación simultánea de estas dos curvas es la asociación del máximo de material perdido con el máximo de calor necesario para que este proceso tenga lugar. Por otra parte, el área debajo de la curva del DTA representa un proceso de entalpía.

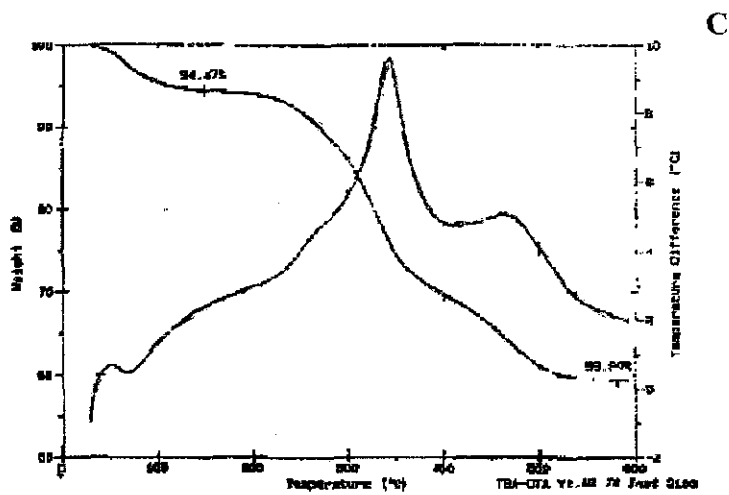
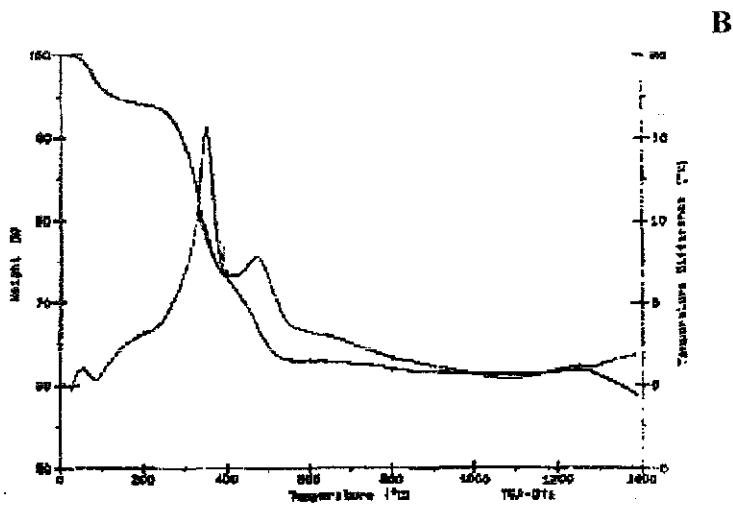
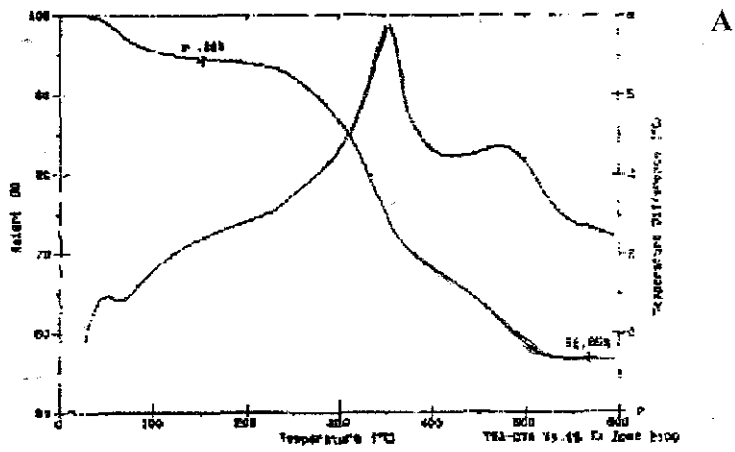
En la figura V.17 B se muestra el mismo experimento pero realizado en rama ascendente. Aquí nuevamente el comportamiento es el mismo sólo que la escala varía hasta llegar a los 1400°C, cabe notar que al ampliar el intervalo de temperatura de registro se puede observar que hacia los 700°C ambos fenómenos se estabilizan, es decir la pérdida de material es poca porque ya no hay material orgánico y además la transferencia de calor con la muestra es ya sin trascendencia.

En la figura V. 17 C se muestra el mismo experimento, realizado en alvéolo donde el porcentaje de pérdida alcanza un 35.18% de la muestra. La tendencia en los tres casos es la misma ya descrita para el caso del cóndilo, es decir la pérdida de material orgánico se asocia siempre al máximo de calor de transferencia para que el proceso tenga lugar.

En la figura V.18 se presentan los resultados de otro experimento de DTA en el que se puede apreciar la curva de enfriamiento lo que indica que el proceso, como esperábamos, no es reversible, y nos indica que para el caso del cóndilo (A) y la rama ascendente (B) la capacidad calorífica es aproximadamente la misma, en tanto que en el alvéolo (C) tiene una ligera diferencia que, como veremos más adelante, cobra importancia. En este estudio podemos observar que los picos de las gráficas están a la misma temperatura en las tres estructuras estudiadas. El hombro que se observa hacia los 455°C está localizado en el mismo punto, mostrando que el comportamiento del enfriamiento tiene poca diferencia en las dos primeras estructuras en tanto que difiere en el alvéolo.

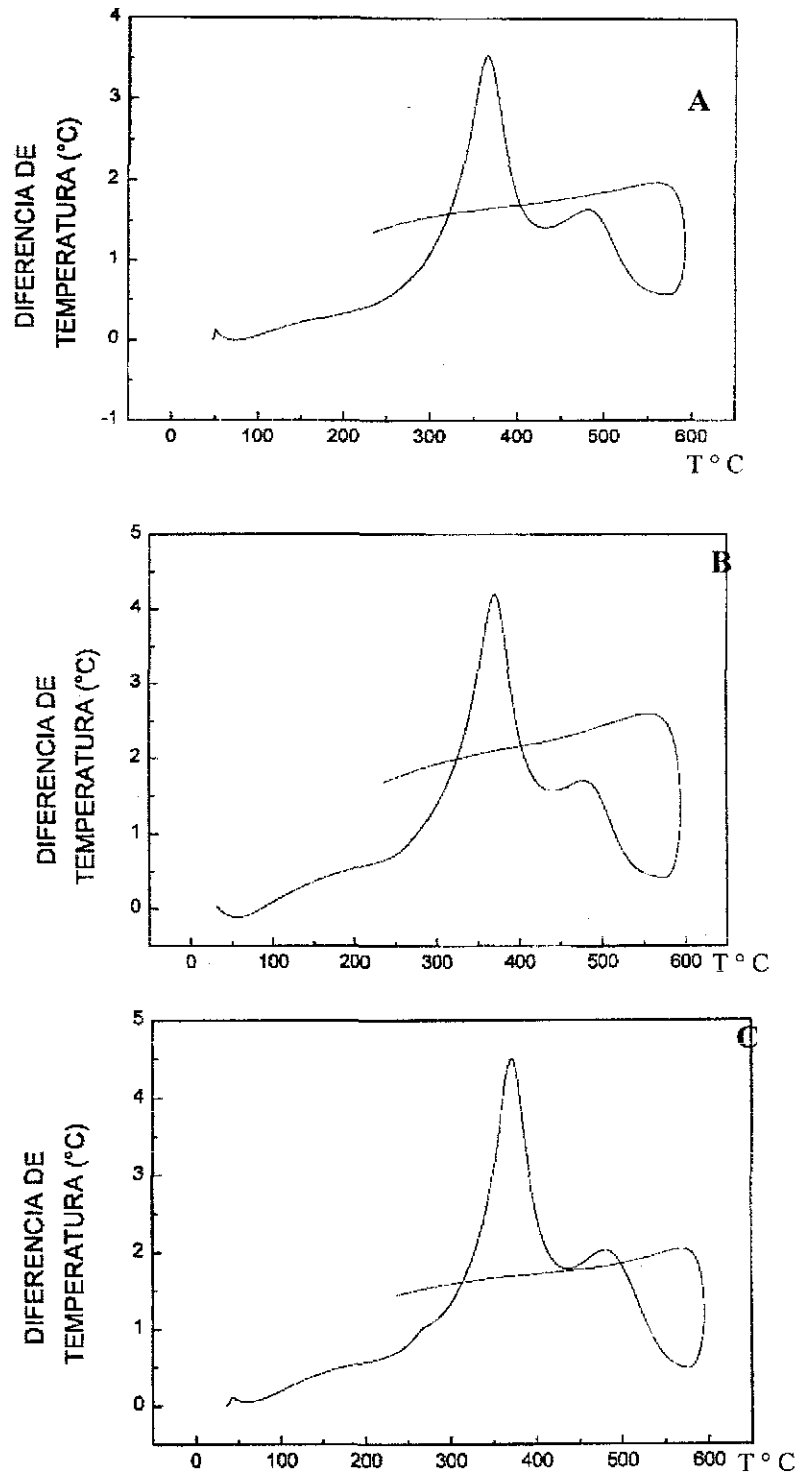
En la figura V.19 se muestra el área debajo de la curva de DTA con el objeto de medir con precisión la cantidad total de calor transferido requerido en el proceso exotérmico. Encontramos que las características en estas gráficas, sólo muestran diferencias en el tercer proceso (o sea en el alvéolo C) donde tenemos una pequeña variación que en los otros dos casos no se observa. Las áreas fueron calculadas siguiendo el criterio de mayor área posible integrable mediante el programa de computo ORIGIN lo que nos permite decir que la cantidad total de calor transferido durante el proceso es para el caso del cóndilo A) (99.33) para la rama ascendente B) es de 132.08 y para el alvéolo C) de 119. Físicamente, estas son las cantidades de calor total que toman parte en el proceso de la pérdida de material que observamos en las gráficas de la figura V.17.

En la figura V.20 se presentan las gráficas correspondientes a las variaciones en cada momento de la transferencia de calor calculadas también en ORIGIN como derivadas. En las dos primeras cóndilo A) y rama ascendente B) observamos el mismo comportamiento, en tanto que la correspondiente al alvéolo C) observamos que en la región del DTA donde aparecía una pequeña "muesca" hacia los 355°C una variación muy importante en la derivada, que se interpreta como una notable variación en la velocidad de transferencia de calor que en este momento ocurre, indicando que está sucediendo algo notable que no se presenta en los dos casos anteriores.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura V.17 Representación gráfica de análisis simultáneo DTA-TGA. Obsérvese que las tres estructuras presentan el mismo comportamiento en ambos experimentos. A) cóndilo, B) rama ascendente y C) alveólo.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura V.18 Representación gráfica del experimento de DTA de las tres estructuras estudiadas. Obsérvese que se presenta la misma conducta de reacción exotérmica. Nótese que la curva de enfriamiento indica que se trata de una reacción no reversible. A) cóndilo, B) rama ascendente y C) alveólo.

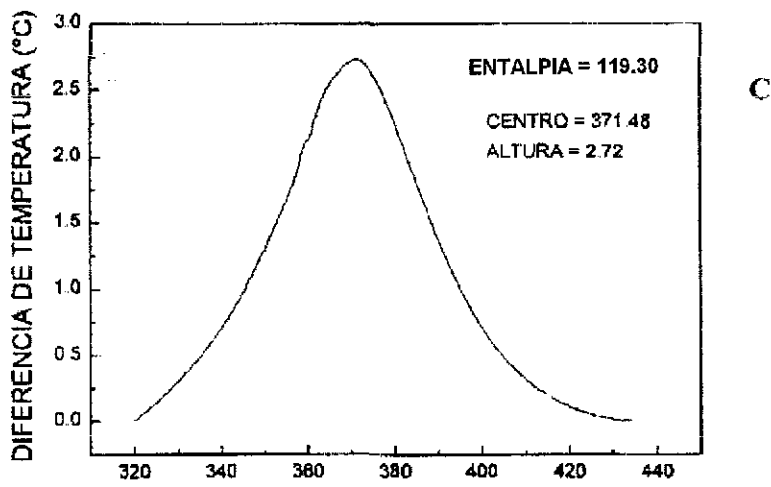
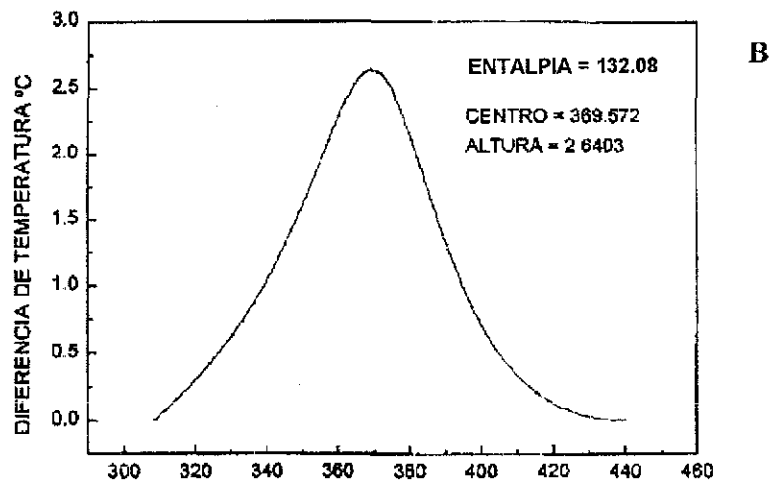
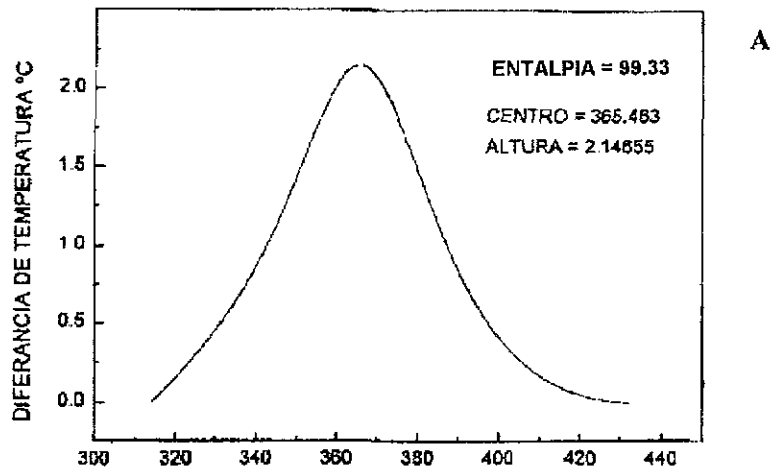


Figura V.19 Representación gráfica que muestra la cantidad de calor empleada en el proceso exotérmico. A) cóndilo, B) rama ascendente y C) alveólulo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

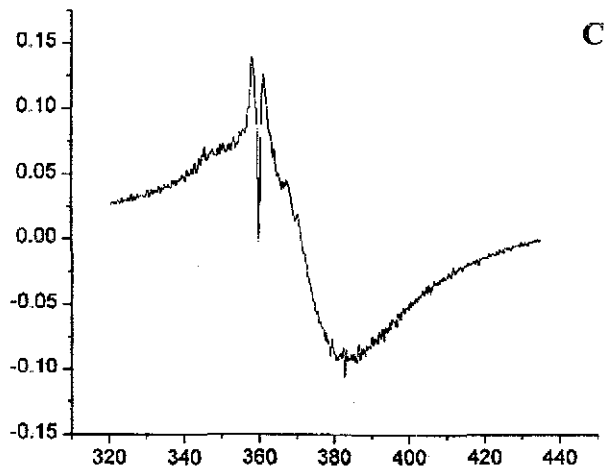
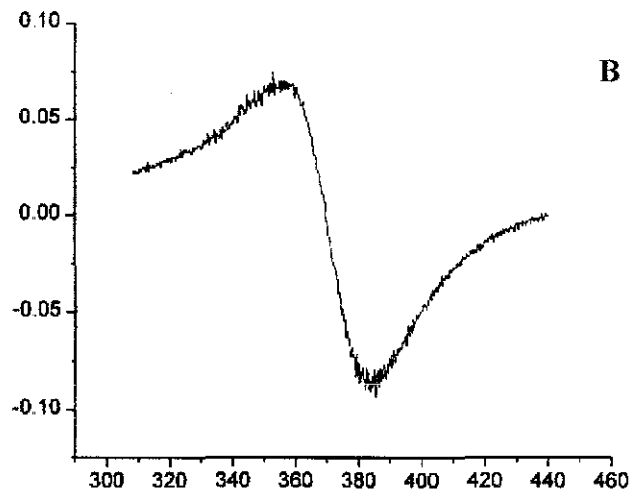
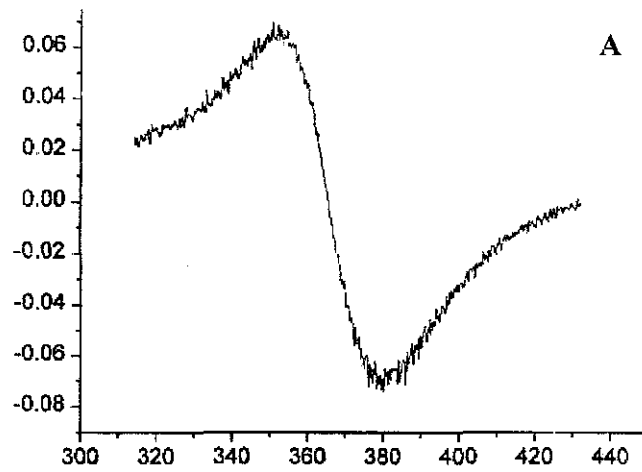


Figura V.20 Representación gráfica de la velocidad del proceso. Nótese cómo hacia los 350 ° C la velocidad de reacción sufre en el hueso alveolar (C) una caída brusca que no se presenta en (A) cóndilo ni en (B) rama ascendente.

En la figura V.21 se muestran los resultados de la espectroscopía infrarroja. Aquí se puede determinar con base a las tablas convencionales asignadas al infrarrojo, que el pico más importante observado que es a los 2350 cm^{-1} y que muestra que el enlace OH del cristal es débil (tomado a temperatura ambiente). El espectro se caracteriza en que de 500 a 1000 cm^{-1} representa al grupo de los fosfatos de la hidroxiapatita y los picos a 1500, 3000 y 3500 cm^{-1} son el grupo característico de la enzima colagenasa la cual sigue el comportamiento típico mostrado por la curva de alta pureza de esta proteína.

Es de importancia notar que a 2350 cm^{-1} de frecuencia se observa el radical OH de la hidroxiapatita y no en la colagenasa. Debe notarse también que en la rama ascendente que se sometió a 1400°C no tiene radical OH lo cual indica una pureza de fosfato tricálcico (TCP) después del tratamiento térmico, indicando además del cambio de fase a esta temperatura que la atención debe centrarse en la pérdida del radical OH del cristal. La parte izquierda que se observa en el espectro corresponde a la parte orgánica del hueso.

La figura V.22 corresponde al espectro IR del esmalte dental humano sometido a diferentes temperaturas (de 20 a 600°C) y es parte de un artículo en prensa del Dr. R. García-García *et al.*, quienes con el objeto de contribuir al conocimiento del comportamiento térmico de la HA nos proporcionaron este material aún no publicado. En este espectro, podemos observar en el rango de 3000 cm^{-1} de frecuencia al radical OH, mismo que se pierde cuando alcanza una temperatura de 600°C . La presencia de los grupos fosfato de la HA se localizan en el rango de 500 a 1000 cm^{-1} de frecuencia.

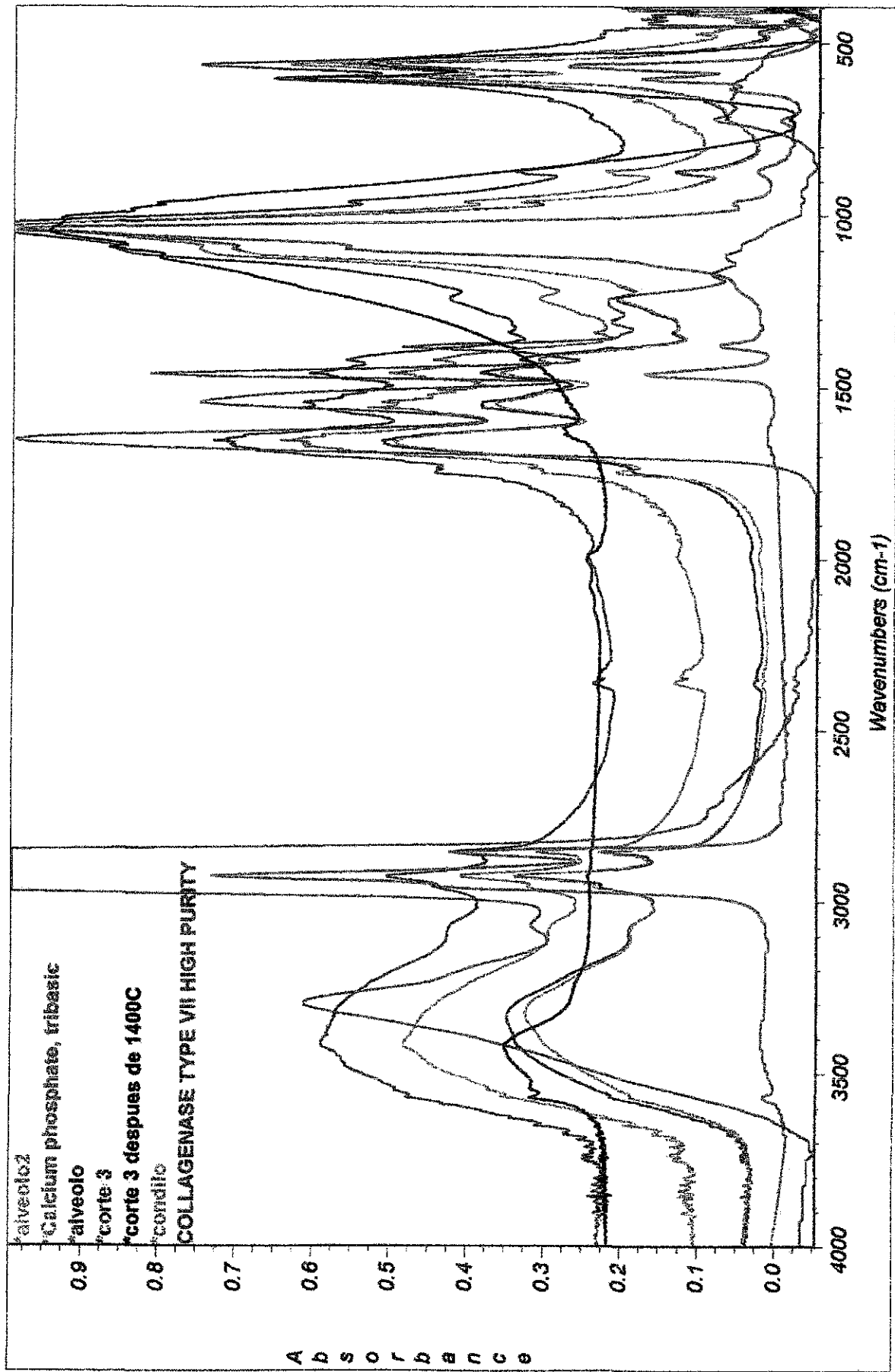


Fig. V.21. Espectrograma de absorción en infrarrojo de condilo, rama ascendente y alveolo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FTIR Spectra of Powder Natural Tooth Enamel! Sample

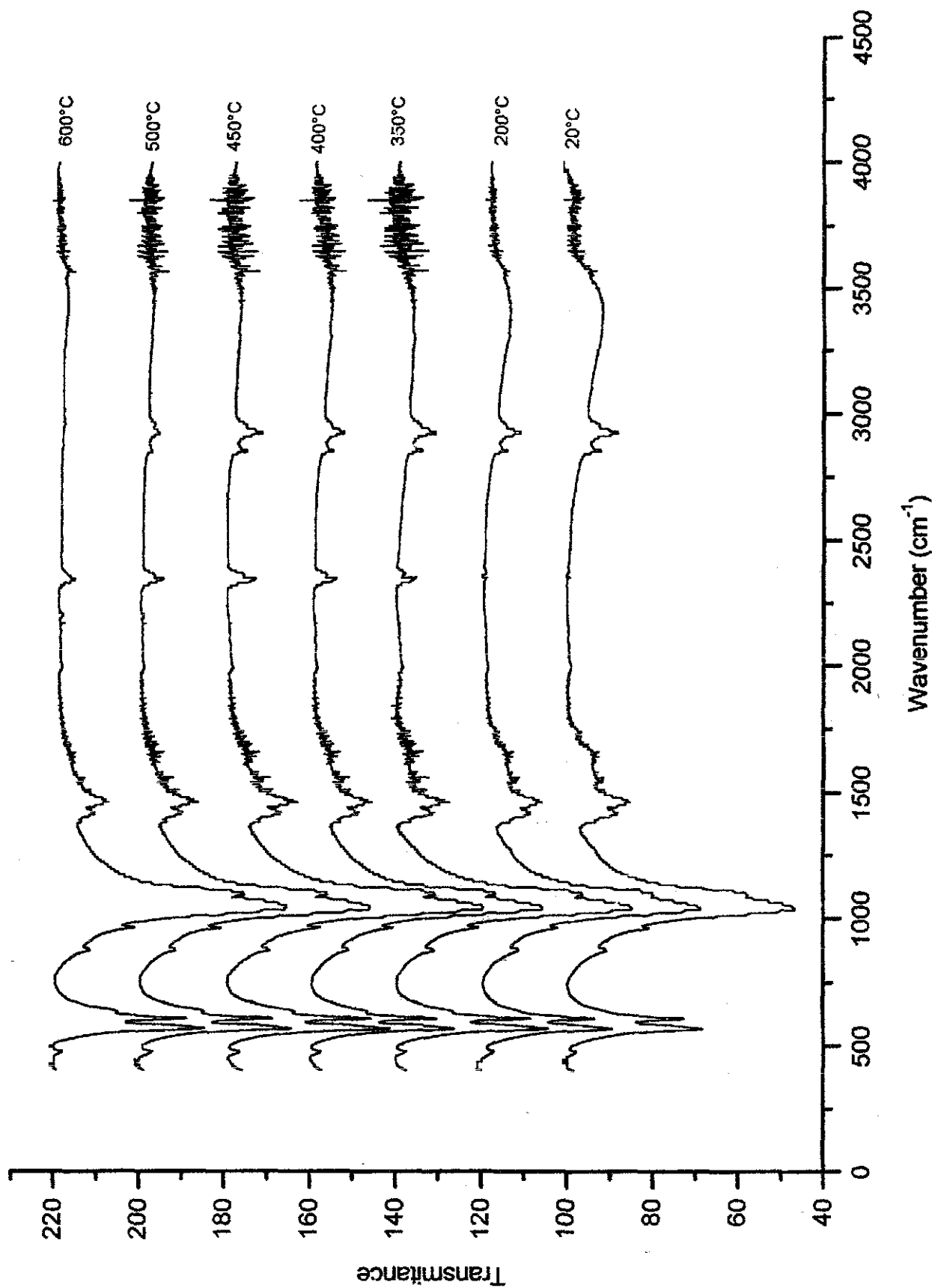


Fig. V.22. Espectrograma de transmisión en infrarrojo de esmalte dental humano a diferentes temperaturas.

CAPÍTULO VI.- DISCUSIÓN

Como podemos observar en los resultados no encontramos ningún cambio estructural en el cristal de HA del hueso, salvo reacomodos de planos del cristal al perderse material orgánico. Esto indica que la HA del hueso mandibular es un material muy estable. Lo que se confirma con la microscopia tanto óptica como de barrido, ya que aunque observamos fracturas, deformación en los conductos de Havers y un alisamiento progresivo del hueso laminar aun persisten estas estructuras a los 800°C de calentamiento, indicando la estabilidad del material mineral del hueso como estructura de soporte del cuerpo. Estos resultados son consistentes con los reportados por Holden *et al.* (1995), ya que ellos también registran fracturas y distorsión del hueso y reportan que la combustión del material orgánico sigue hasta los 400°C. A nivel micrométrico los cambios de coloración que estos autores reportan difiere sólo a los 200°C, donde refieren un color anaranjado, en contraste con el color crema que observamos en el hueso alveolar.

También los rangos de temperatura reportados para la desnaturalización de la colágena (Kronick ,1995), coinciden con nuestros hallazgos de fracturas a 100°C en hueso alveolar. A esta temperatura observamos en las imágenes de MEB los puentes de fibras de colágena que sostienen y dan soporte a la parte mineral del hueso, y que a esta temperatura empiezan a desnaturalizarse dando como resultado la fractura del hueso. No olvidemos que el cambio de fase de la HA hacia otro fosfato cálcico, de acuerdo a su diagrama de fase, se da por arriba de los 1000°C. Por otra parte, los resultados de los análisis del DTA indican cambios importantes en el comportamiento del hueso hacia los 350°C en especial en el hueso alveolar.

Esto lo podemos asociar con pérdida de OH estructural en el cristal de la HA ya que en estudios hechos en el cristal de HA del esmalte dental humano observamos que hacia los 200°C éste cambia sus propiedades eléctricas de aislante a conductor (Reyes-Gasga J., *et al.* 1999). La transición de aislante a

conductor del esmalte dental la podríamos explicar a través de que el cristal tiene un calentamiento dual es decir, por una parte esta siendo calentado por la platina del microscopio electrónico y por otra parte recibe colisiones del haz de electrones con el que es bombardeado haciendo que exista un efecto sinérgico o sumatorio lo que hace que a una temperatura menor se halla registrado el cambio. También la presión a la que se encuentra la muestra en el microscopio electrónico (alrededor de 10^{-7} Torr) tiene que ver con esta reducción en la temperatura.

La hipótesis de pérdida del radical OH estructural del cristal se basa en los datos reportados por el IR y hace reconsiderar la hipótesis de que la conductividad eléctrica observada en el esmalte dental no solo sea de naturaleza iónica sino electrónica. Al perderse los OH del centro del cristal se propone que existe un cambio en sus propiedades eléctricas. Cabe hacer notar que la pérdida de agua estructural que se reporta en el cristal del hueso concuerda con los hallazgos encontrados en el trabajo de tesis de Elson Sánchez P. (2000) en los que se reporta que existen reflexiones prohibidas en el cristal de HA. Además destaca el hecho de que los resultados mostrados en las figuras V.21 y V.22 correspondientes a hueso mandibular y esmalte dental humanos, muestran la presencia del radical OH hacia los 2350 cm^{-1} de frecuencia en el caso del hueso detectándose en el mismo rango de transmisión (3000 cm^{-1}) la presencia del radical OH en el esmalte, el cual se pierde al aumentar la temperatura hacia los 600°C , mismo rango de temperatura al que se sometió el hueso mandibular; esto permite suponer que también a esta temperatura se pierde el radical OH en el hueso, datos que son apoyados por la ausencia del radical en la rama ascendente que fue sometida a 1400°C . Por otra parte, la parte izquierda del espectro (3000 a 4000 cm^{-1}) que se presenta en el hueso y que corresponde a la materia orgánica no está presente en el espectro de transmisión del esmalte dental, datos que coinciden con los reportados en referencia al contenido de materia orgánica de ambas estructuras (LeGeros, 1994).

Debe hacerse notar que las diferencias en los rangos de absorción difieren ligeramente debido a que en el caso del hueso la técnica está registrando absorción en tanto que en el esmalte se registra transmisión.

Se ha propuesto que es la parte mineral la que estabiliza a la colágena del hueso (Kronick,1995). Esto es apoyado por los datos de difracción de Rayos X que muestran que el cristal es estable al tratamiento térmico hasta los 800°C. Cuando analizamos los datos del DTA en relación a la velocidad de reacción en el alveolo vemos una caída drástica hacia los 360°C que es coincidente con el máximo de pérdida de material apoyado por los datos de termogravimetría que muestran que el 35% del peso se pierde a esta temperatura y debemos recordar que el porcentaje de materia orgánica reportado para hueso es de en 30%, la curva regresa después de esta caída a la de comportamiento exotérmico. Esto sugiere que después de esta temperatura el comportamiento de la curva se debe exclusivamente a la hidroxiapatita, que a su vez es una conducta que muestra por sí misma en estado sintético al tratamiento térmico (García-García *et al*, 2001).

El porqué este comportamiento de caída abrupta no se muestra en las otras dos estructuras estudiadas (cóndilo y rama ascendente) se puede explicar en base a un menor contenido de materia orgánica ya que se trata de huesos maduros, en tanto que la muestra de polvo de hueso alveolar contiene principalmente hueso inmaduro cuyo contenido en materia orgánica es mucho mayor. Esto indica que la combustión de la parte orgánica sólo contribuye en una parte del proceso en el rango menor de los 400°C, en tanto que a partir de esta temperatura la conducta de la gráfica debe explicarse en base a la estructura de la parte mineral. Esto coincide con los hallazgos en la hidroxiapatita sintética que muestra en DSC (García-García *et al*. En prensa.), los cuales muestran el mismo comportamiento que la curva de DTA integrada que presentamos es el capítulo anterior en las tres estructuras de la mandíbula. Es decir, el material orgánico, sólo contribuye de manera parcial al proceso, de tal manera que a veces su contribución puede

quedar enmascarada. Lo que nos da una visión de las fibras colágena dando soporte y dirección al sistema del hueso, en tanto que la parte mineral le proporciona estabilidad y dureza al mismo.

La no estequiometría y la presencia de grupos de sustitución en el cristal de apatita del hueso, es probable que le confieran de la variabilidad necesaria para mantenerse interactuando con los otros sistemas de la economía del cuerpo en homeostasis, es decir de una manera dinámica y no sólo como un sistema de soporte y transmisión de cargas. La hidroxiapatita, representando casi un 70% del contenido de peso seco del hueso, es evidente que su asociación con la materia orgánica, es de vital importancia, ya que de otra manera el sistema carecería de elasticidad, lo que le daría al hueso un carácter rígido exponiéndolo a fracturas constantes. Como se mencionó en el capítulo II el hueso es un material tipo "composito" que está sometido a las demandas funcionales del cuerpo, como tal, podemos visualizar a la colágena no sólo como un sistema de amortiguamiento sino como parte integral del mismo, ya que las mismas fibras se mineralizan para conferir a la estructura de la elasticidad necesaria, al tiempo que esta mineralización confiere a la proteína de una mayor estabilidad térmica.

Por lo que respecta al cambio en la conductividad eléctrica observada en el esmalte dental humano (Reyes-Gasga, *et al.* 1999), y habiéndose demostrado que la HA de ambas estructuras presentan comportamientos similares en los difractogramas de Rayos X, con sólo reacomodo de planos en respuesta al tratamiento térmico, se puede inferir que la HA de las tres estructuras mandibulares estudiadas pueden presentar el mismo fenómeno. A pesar de las diferencias del cristal, en los tres casos: esmalte dental, HA sintética y hueso mandibular humano en cuanto a sustituciones, tamaño, orientación, estequiometría, etc., la similitud en el comportamiento térmico indicaría que se trata de una cualidad intrínseca de la estructura de la HA, apuntando hacia el centro del cristal, en el eje c donde se encuentra el radical OH. Este resultado dirige nuestra atención hacia el centro de cristal, en el eje c donde se encuentra el

radical OH. Entonces, la conclusión necesaria es que el grupo oxidrilo es el responsable de la respuesta térmica en los tres casos. De aquí se desprende la necesidad de aislar la HA del hueso para su ulterior estudio de conductividad y la de comparar con las pruebas de DTA y TGA hechas al esmalte dental; así como con los resultados mostrados en la HA sintética (García-García, et al 2001).

Por otra parte, en el caso del esmalte dental humano, la función del cristal es diferente a la del hueso ya que provee al diente de la dureza necesaria para desgarrar y triturar alimentos, de ahí el bajo contenido en materia orgánica; lo que explica en parte su mayor tamaño y definición de cristalinidad, como se observa en la tabla II.1 de este trabajo de tesis. En el análisis químico, observamos que contiene bajos contenidos de carbonatos, lo que protegería a la estructura de su disolución por los ácidos y otros agentes degradadores que se encuentran en la cavidad oral; lo que no sucede con el hueso cuya función es más compleja ya que interviene directamente en el metabolismo del cuerpo, es decir su función es *dinámica, no sólo de protección. Desde el punto de vista fisiológico, la parte externa del cristal debe ser estable, porque los iones calcio intervienen en el equilibrio metabólico del cuerpo. Se sabe que el hueso se desmineraliza para proveer a la economía de sus demandas de calcio, por lo que la estabilidad del cristal es importante que no se encuentre en el centro, ya que de otra manera la estructura no proveería del soporte necesario para soportar el peso y movimiento del cuerpo. Así, aunque se empleen iones de superficie del cristal, esto no desequilibra al hueso. Podemos suponer que el cristal recupera estos iones, ya que el cuerpo tiende a un status quo u homeostasis siempre.*

También sabemos, que la osteoporosis y la caries se mejoran con la adición de flúor en la dieta o tratamiento ectópico respectivamente. LeGeros (1994), reporta que esta substitución se lleva a cabo o bien en los iones fosfato o carbonato, y en el centro del cristal, lo que explicaría su variabilidad en cuanto a substituciones al tiempo que continúa siendo estable, condición que se reporta en este trabajo en un amplio rango de temperatura (de 25 a 800°C). Indicando que este fenómeno es

fundamental para la función tanto del hueso como del diente. También los análisis químicos obtenidos concuerdan con los reportados en la literatura (LeGeros, 1994, Holden *et al.* 1995) en donde encuentran Cl, Na, Mg, concordando con la idea general que la HA del hueso es una forma del cristal con sustituciones e impurezas.

Como consideración final, se propone que a través del estudio de los cristales de hidroxiapatita biológicos, se pueda contribuir no sólo al desarrollo de biomateriales, sino a la comprensión de las causas y desarrollo de las enfermedades que involucren una disfunción de los tejidos duros, abordando este estudio desde el primer nivel de integración: el comportamiento de la estructura cristalina del material que representa el 70% del hueso, la hidroxiapatita.

Conclusiones y Perspectivas

Los datos de espectroscopia de Rayos X muestran que el cristal de la HA de las tres estructuras mandibulares es estable en el rango estudiado de 25 a 800°C sufriendo sólo reacomodo los planos cristalinos.

Los datos de DTA y TGA sugieren cambios importantes hacia los 350°C en la conducta térmica del material, lo que puede correlacionarse con la pérdida de agua superficial del cristal de HA a estas temperaturas y del radical oxidrilo y no sólo a la pérdida de material orgánico. El análisis termogravimétrico comprueba la pérdida de peso que consideramos corresponde a materia orgánica y en el estudio de análisis térmico diferencial se correlaciona la energía necesaria para que se lleve a cabo este proceso. Sin embargo, el hecho de que sea alrededor de esta temperatura que todos estos cambios tengan lugar es sugestivo de existen fenómenos que requieren de más estudio a nivel ultraestructural.

Los estudios de microscopía tanto óptica como de barrido sólo confirman el hecho esperado de que al aumentar la temperatura del hueso se presente la pérdida de material orgánico con la consecuente presencia de fracturas y grietas en la estructura que se presentan desde los 100°C.

Los datos de espectroscopía infrarroja muestran la pérdida del radical OH en la rama ascendente y un cambio de fase a los 1400°C. El radical se encuentra presente a temperatura ambiente en las tres estructuras estudiadas en el hueso mandibular con esta técnica.

Finalmente, podemos decir que la HA del hueso mandibular estudiado muestra sustituciones e impurezas en el cristal, como lo indican los datos de análisis EDS.

Como consideración final se propone separar para el estudio de una estructura tan compleja como el hueso, considerada como material tipo "composito", de sus componentes orgánicos e inorgánicos para describir su conducta individualmente.

En especial, sería interesante estudiar el comportamiento eléctrico de la hidroxiapatita del hueso mandibular de la misma manera que se hizo en el esmalte dental humano, ya que ambas estructuras muestran durante el calentamiento alrededor de los 300°C cambios similares en su comportamiento. Considerando la estabilidad que ambas apatitas muestran en los patrones de difracción de Rayos X durante el calentamiento (con sólo reacomodos de planos cristalinos) y los datos reportados en cuanto a sus diferencias estructurales, es importante encontrar los puntos de coincidencia que resultan en esta estabilidad entre ambas.

El estudio del hueso y en especial de la hidroxiapatita que lo forma es un tema complejo y requiere del esfuerzo conjunto entre profesionales de distintas disciplinas, como lo son la biología, la química, la física y la odontología. Por lo que enfatizamos la necesidad de un enfoque multidisciplinario para su estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

1. AMIGO, José M. **Cristalografía**. Madrid: Rueda, 1981.
2. BARBOSA, M.A. (ed.) "*Fundamental aspects and related clinical phenomena*". En: **Biomaterials degradation**. New York, N.Y. : Elsevier Science Publisher B.V., 1991.
3. BLUMENTHAL, N.C., BETTS, F., POSNER, A.S. "*Formation and structure of Ca deficient hydroxyapatite*". En: **Calcif Tissue**. Vol. 33, 1981. – pp. 11 – 17.
4. BOYDE, A. and JONES, S.J. "*Scanning electron microscopy of bone : instrument, specimen and issues*". En: **Mic. Res. And Tech**. Vol. 33, 1996. pp. 92-120.
5. CURREY, J.D. "*What is bone for? Property-function relationships in bone*". En: **Mechanical properties of bone**. Vol. 45. New York : ASME, AMD, 1981. pp. 13-26.
6. DAVIES, W.L. **Histología y embriología bucal**. México : Nueva Editorial Interamericana, 1986.
7. DE ROBERTIS Y DE ROBERTIS. **Biología celular y molecular**. España: El Ateneo, 1987.
8. DIAZ ESTRADA J.R **Preparación y Caracterización de Prótesis de Hidroxiapatita para globo ocular**. México : el autor 1998. Tesis de licenciatura: UNAM, Facultad de Química, UNAM,1998
9. **Thermal analysis system 9900: operator's manual**. USA : Du Pont Co., 1987.
10. **Enciclopedia Encarta 2000**. Microsoft, 2001. (Disco compacto)
11. FIX, W., HEYMANN, H. And HEINKE, R. "*Subsolidus relations in the system $2CaO.SiO_2.3CaO.P_2O_5$* ". En **Journal of American Ceramic Society**. Vol. 52, 1969. pp. 346-347.
12. GALINDO, S. **Breve introducción a la espectroscopía UAEM ciencias y técnicas 5**. México : ININ, 1983.
13. GANONG, W.F. **Fisiología médica**. México : El Manual Moderno, 1995.



14. GARCÍA – GARCÍA, R., REYES – GASGA, J., PASTENES, E.S. *"Evidencias del desplazamiento del radical oxidrilo estructural de la hidroxiapatita en las interacciones térmicas y de microscopía electrónica"*. En: **VI Congreso Interamericano de Microscopía Electrónica, Veracruz, Ver., 2001.**
15. GÓMEZ –G., G. **Síntesis y caracterización de la hidroxiapatita.** Tesis de Maestría. México : Instituto Politécnico Nacional; Escuela Superior de Física y Matemáticas, 1997.
16. GUYTON, A.C. **Tratado de fisiología humana.** México : McGraw-Hill Interamericana, 1989.
17. HASTINGS, G. *"Composite materials in biomedical engineering"*. En: **Biomaterials degradation.** New York, N.Y. : Elsevier Science Publishers B.V., 1991. Chapter 3.
18. HOBSON, R.S., and BEYNON, D. *"Preliminary quantitative microradiography study into the distribution of bone mineralization within the basal bone of the human edentulous mandible"*. En: **Archs. Oral Biol.** Vol. 42, No. 7. Great Britain : Elsevier Science Publisher Ltd., 1997. pp. 497-503.
19. HOLCOMB, D.W., YOUNG, R.A. *"Thermal decomposition of human tooth enamel"*. En: **Calcif. Tissue Int.** Vol. 31, 1980. pp. 189-201.
20. HOLDEN, J.L. PHARKEY, J.G. *"Scanning electron microscope observations of heat-treated human bone"*. En : **Fore. Sci. Int.** Vol. 74. Ireland : Elsevier Science Publisher Ltd., 1995.
21. ----- *"Age and temperature related changes to the ultrastructure and composition of human bone mineral"*. En : **Journal of Bone and Mineral Research.** Vol. 10, No. 9. Ireland : Elsevier Science : Blackwell Science, 1995.
22. ----- *"Scanning electron microscope observations of incinerated human femoral bone: a case study"*. En : **Foren. Sci. Int.** Vol. 74. Ireland : Elsevier Science, 1995. pp. 17-28.
23. JIMÉNEZ-GARCÍA, L. F. et al. *"Microscopía de fuerza atómica en el estudio de células y tejidos de plantas"* En : URIBE-ARANZABAL, GARCÍA L. (Eds). **Nuevos retos de la docencia y la investigación en histología.** Soc. Méx.Hist. A.C. Cap.21 pp 215-222. México. 2001 UAM Zeiss.



24. KRONICK, P.L. & P. COOKE. "Thermal stabilization of collagen fibers by calcification". En : **Conn. Tiss. Res.** Vol. 33 No. 4, pp 275-282. Amsterdam. OPA. 1996.
25. LACOUT J.L. " **Calcium phosphates in oral biology and medicine**". En: **Biomaterials. Hard Tissue Repair and Replacement**. D. Munster Editor, Elsevier, Science Publishers. Amsterdam. 1992.
26. LeGEROS, R. Z. **Calcium phosphates in oral biology and medicine**. Switzerland : S. Kargel, 1991.
27. ----- "Biological and synthetic apatites" En: **Hydroxyapatite and related materials**. [S.L. : S.N.], 1994.
28. LINDTH, C., PETERSON, A., BLINGE, B., and NILSSON, M. "Trabecular bone volume and bone mineral density in the mandible" En: **Dentomaxillofacial Radiology**. Vol. 6. Sweden : Stockon Press, 1997. pp. 101-106.
29. MAYELIN GUERRA, R. **Evaluación preclínica de biomateriales**. [México : UNAM, Centro de Biomateriales, 1999]
30. McKELVEY, J.P. **Física del estado sólido y semiconductores**. México : Limusa, 1996.
31. MORRIS, N. "The physiology of bone". En: **Osteoporosis: prevention, diagnosis and management**. PCI, 1997. Chapter 2.
32. ----- "The physiology of bone". En : **Osteoporosis : prevention, diagnosis and management**. PCI, 1999. Chapter 2.
33. MUNSTER, D. " *Fundamental aspects and related clinical phenomena for hard tissue repair and reconstruction*". En: **Biomaterials degradation**. New York, N.Y. : Elsevier Science Publishers, 1991. Chapter 1.
34. NEWMAN, W.F. **The chemical dynamics of bone mineral**. Chicago: The University Chicago Press, 1958.
35. ORBAN, B. **Histología y embriología bucales**. México : La Prensa Médica Mexicana, 1953.
36. OZIN, G.A., VARAKSA, N., COOMBS, N. "Bone mimetics: a composite of hydroxiapatite and calcium dodecylphosphate lamellar phase". En: **Journal of Mater. Chem.** Vol. 7, No. 8, 1997. pp. 1601-1607.



37. PARK, J.B. and LAKES, R.S. "Structure property relationships of biological materials". En: **Biomaterials: an introduction**. New York: Plenum Press, 1992. Chapter 9.
38. PLUSKIEWICZ, W. B., "Mandibular bone mineral density measured using dual energy X-Ray absorptiometry: relationship to hip bone mineral density and quantitative ultrasound at calcaneus and hand phalanges". En : **Journal of Radiology**. Vol. 73, 2000. pp. 288-292.
39. POLONIO, J. B. **Métodos de difracción de Rayos X principios y aplicaciones**. Madrid: Pirámide. 1981.
40. RASMUSSEN, H., PECHET, M. "La calcitonina". En. **Scientific American**. Oct., 1970.
41. RATNER, D., BUDDY AND HOFFMAN, J. Allan. **An introduction to materials in medicine**. USA: Academic Press, 1996.
42. REVERDY, M.R. **High temperature study of hydroxyapatite: dissertation for mastyers degree**. Massachusetts : El autor, 1969. Tesis de Maestría.
43. REYES-GASGA, J., GARCÍA, R. "Conductivity in human in human tooth enamel". En: **Journal of Materials Science**. Vol. 34, 1999. pp. 2183-2188.
44. ----- "Child, adult and aged human tooth enamel characterized by electron microscopy". En: **Acta microscópica**. Vol. 6, No. 1, 1997.
45. ----- "In situ observation of fractal structures and electrical conductivity in human tooth enamel". En: **Phil. Mag. A**. Vol. 75, No. 4, 1997. pp. 1023-1040.
46. ROSS, M., ROMRELL, L. **Histología: texto y atlas a color**. México : Médica Panamericana, 1997.
47. SERRANO, S. "Estructura y función del hueso normal". En: **II Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica, 1998**. Web: <http://www.info.conganat.org/>
48. SÁNCHEZ PASTENES, E. **Simulación de los patrones de difracción electrónica de haz convergente de la hidroxiapatita**. México : El autor, 2000. Tesis de Maestría en Física. UNAM, Facultad de Ciencias.
49. SCHULTZ, B.P. **Espectroscopía infrarroja**. México : Universidad de Guadalajara, 1993.



50. SMITH, D.K. "*Calcium phosphate apatites in nature*". En: **Hydroxyapatite and related materials**. 1994.
51. SPEYER, R.F. **Thermal analysis of materials**. New York : Marcel Dekker Inc., 1994.
52. TAGUCHI, A. ..[et.al.] "*Trabecular bone pattern of the mandible: comparision of panoramic radiography with computed tomography*". En: **Dentomaxillofacial radiology**. Vol. 26. [s.l.]: Stockon Press, 1997. pp. 85-89.
53. TEN CATE. **Histología oral: desarrollo, estructura y función**. [México : s.n.] 1986.
54. THOMAS M. B., Doremus R.H., Jarcho M. Salsbury R.L. "*Dense hydroxyapatite: fatigue and fracture strenght after various treatments from diametrical tests*". **J. Mater. Sci.** 15:891-894. 1980.
55. VARGAS-ULLOA, L. **Análisis estructural y químico de la línea oscura de los granos del esmalte dental humano por medio de microscopía electrónica**. México : El autor, 1997. Tesis de Maestría. UNAM, Facultad de Odontología.
56. -----**Análisis in-situ de las estructuras fractales y conducción del esmalte dental humano**. México : El autor, 2000. Tesis de doctorado. UNAM, Facultad de Odontología.
57. WEINER, S. "*Organization of hydroxyapatite crystals within collagen fibrils*". En: **FEBS Letters**. Vol. 206, No. 2, 1986.
58. WOVERN, von N. "*Bone mass of madibles in vitro and in vivo analyses*". En: **Danish Medical Bulletin**. Vol. 33, No. 1, 1986.
59. YACAMÁN, M.J. y REYES-GASGA, J. **Microscopía electrónica: una visión del microcosmos**. México : CONACYT : Fondo de Cultura Económica, 1995.
60. YOUNG, R.A. "*Atomic scale bases for several properties of apatites*". En: **Arch. Oral. Biol.** Vol. 11, 1966. pp. 699-707.



Índice de Figuras.

Fig. I.1. Esquema del sistema de poros de intercomunicación del hueso.	11
Fig. I.2. Esquema de hueso largo en humano.	13
Fig. I.3. Hueso esponjoso de res.	14
Fig. II.1. Esquema de la celda unidad de la hidroxiapatita.	25
Fig. II.2. Esquema de la disposición de los átomos de Ca, P, y OH en la celda unidad de la hidroxiapatita.	26
Fig. III.1. Esquema ilustrativo de la ley de Bragg	37
Fig. III.2. Esquema de hornos para DTA.	40
Fig. III.3. Diagrama de espectrofotómetro.	44
Fig. V.1. Fotografía de la mandíbula humana usada en este estudio. Vista en (A) de frente y (B) de perfil.	51
Fig. V.2. Fotografía de la mandíbula humana usada en este estudio. Vista desde arriba (A) y vista desde abajo (B).	52
Fig. V.3. Radiografía panorámica de la mandíbula humana usada en este estudio.	53
Fig. V.4. Radiografía periapical del tercer molar. Muestra el hueso alveolar que se utilizó en este estudio.	54
Fig. V.5. Imágenes de microscopía óptica de campo oscuro a diferentes ampliaciones del hueso alveolar humano, antes de ser sometido a tratamiento térmico.	56
Fig. V.6. Imagen de MEB de cóndilo humano utilizado en este estudio.	57
Fig. V.7. Imagen de MEB de la rama ascendente utilizada en este estudio.	57
Fig. V.8. Espectro de EDS mostrando el análisis químico del hueso alveolar.	59
Fig. V.9. Imágenes de microscopía óptica de campo oscuro del hueso alveolar al ser sometido a temperaturas de en: (A) 100°C, (B) 300°C, (C) 700°C y (D) 800°C.	64

Fig. V.10. Imágenes de MEB del hueso alveolar después de ser calentado durante una hora a 100°C.	65
Fig. V.11. Imágenes de MEB del hueso alveolar, después de ser calentado durante una hora a 500°C.	66
Fig. V.12. Imágenes del hueso alveolar después de ser calentado durante una hora a 700°C, en: (A) microscopía óptica de campo oscuro, (B y C) imágenes de MEB de la misma muestra.	67
Fig. V.13. Imágenes del hueso alveolar, después de ser sometido a la temperatura de 800°C durante una hora, en: (A) microscopía óptica de campo oscuro, (B y C) MEB.	68
Fig. V.14. Patrón de difracción de Rayos X a temperatura ambiente, del polvo proveniente del cóndilo.	70
Fig. V.15. Difractogramas de Rayos X de polvo proveniente del cóndilo en: (A) 300°C y (B) 700°C.	71
Fig. V.16. Representación gráfica de los cambios de intensidad en el patrón de difracción de Rayos X de los picos (211), (300) y (112), en las tres estructuras estudiadas.	73
Fig. V.17. Gráficas de análisis simultáneo de DTA-TG en las tres estructuras estudiadas: A) cóndilo, B) rama ascendente y C) alveolo.	78
Fig. V.18. Gráficas de resultados de DTA, mostrando curvas de enfriamiento en: A) cóndilo, B) rama ascendente y C) alveolo.	79
Fig. V.19. Gráficas que muestran el área bajo la curva del experimento de DTA en: A) cóndilo, B) rama ascendente y, C) alveolo.	80
Fig. V.20. Gráficas que muestran la velocidad a la que se lleva a cabo el proceso exotérmico mostrado en la figura V.20.	81
Fig. V.21. Espectrograma de absorción en infrarrojo de las tres estructuras estudiadas.	83
Fig. V.22. Espectrograma de transmisión en infrarrojo de esmalte dental humano a diferentes temperaturas.	84

Índice de Tablas.

Tabla I.1. Componentes del hueso húmedo y cantidad de éstos en porcentaje de peso.	9
Tabla I.2. Comparación entre el contenido mineral en porcentaje, y propiedades mecánicas del hueso en tres especies biológicas.	15
Tabla II.1. Comparación de composición y fases inorgánicas de esmalte, dentina y hueso en humanos adultos.	23
Tabla II.2. Posibles grupos de sustitución de las apatitas biológicas.	27
Tabla III.1. Tabla que muestra la dependencia del poder resolutivo de los aparatos y métodos empleados, en función del nivel estructural al que se pretende llegar en el estudio.	32
Tabla V.1. Inserta en la figura V.8. Concentración en porcentaje atómico y de peso, para los elementos detectados en el hueso alveolar.	59
Tabla V.2. Resultados del análisis por EDS de las diferentes partes de la mandíbula humana estudiada.	61
Tabla V.3. Porcentaje de modificación de los picos del difractograma para diferentes temperaturas, de polvo proveniente del cóndilo.	74